

BIBLIOTHEEK
LEESMUSEUM
AMSTERDAM.

AFD.

N^o

gnk
4987

THIS IS.

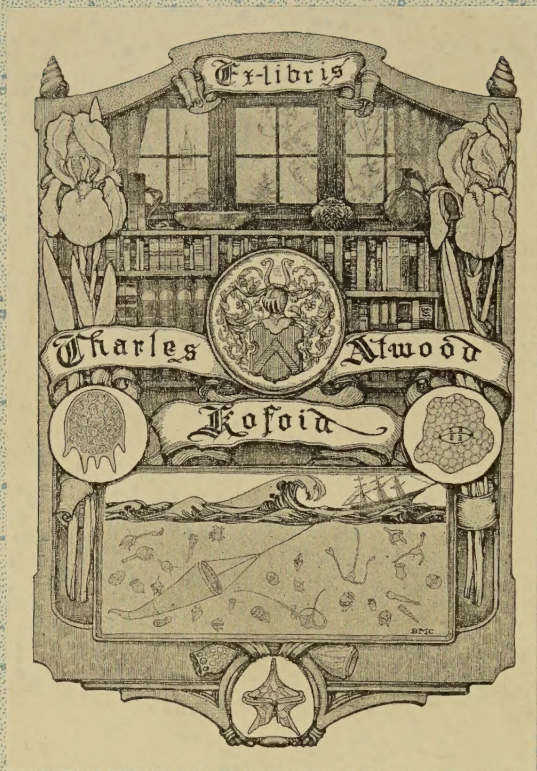
AMSTERDAM

1915

PHAGOCYTOSE

EN IMMUNITEIT

JOHAN VAN ROOJEN



4987

OL

PHAGOCYTOSE EN IMMUNITEIT.



REPORT OF THE
COMMISSIONER OF THE
LAND OFFICE

FOR THE YEAR 1881

IN CONNECTION WITH THE
LANDS BELONGING TO THE
GOVERNMENT



PHAGOCYTOSE EN IMMUNITEIT

ONDERZOEK OVER DE VRAAG, LANGS WELKEN WEG DE
PHAGOCYTOSE DER BACTERIËN KAN LEIDEN TOT VERWERVEN
VAN IMMUNITEIT.

ACADEMISCH PROEFSCHRIFT

TER VERKRIJGING VAN DEN GRAAD VAN DOCTOR IN DE
GENEESKUNDE, AAN DE UNIVERSITEIT VAN AMSTERDAM, OP
GEZAG VAN DEN RECTOR-MAGNIFICUS

Dr. A. BRUINING,

HOOGLEERAAR IN DE FACULTEIT DER GODGELEERDHEID,
IN HET OPENBAAR TE VERDEDIGEN OP DINSDAG 29 JUNI 1915,
DES NAMIDDAGS TEN 4 URE, IN DE AULA DER UNIVERSITEIT.

DOOR

JOHAN VAN ROOJEN,

GEBOREN TE ZAANDAM.

ZAANDAM — A. STUURMAN — 1915.



Aan mijn Ouders.

Het is mij een aangename taak bij het verschijnen van dit proefschrift, U Hoogleeraren, Lectoren en Privaatdocenten van de geneeskundige en natuurphilosophische faculteiten aan de Universiteit van Amsterdam, mijn oprechten dank te betuigen voor het onderwijs, dat ik van U heb mogen ontrangen.

In het bijzonder dank ik U, Hooggeleerde Ruitinga, Hooggeachte Promotor, voor de talrijke bewijzen van welwillende belangstelling, die ik bij de bewerking van dit proefschrift van U heb ondervonden en voor de zeer gewaardeerde leiding, die ik, als assistent aan uw klinische afdeeling, van U heb genoten.

Ten slotte zeg ik U allen, vrienden en bekenden, die mij met uw adviezen, of wel met de correctie der drukproeven hebt gesteund, van harte dank.

INHOUD.

HOOFDSTUK I, blz. 1.

Humorale en phagocyttaire theorie van de immuniteit.

Tot stand komen van een verworven immuniteit.

De vraag of de phagocyten van een geïmmuniseerd dier beter in staat zijn bacteriën intracellulair te vernietigen dan die van een niet geïmmuniseerd dier.

HOOFDSTUK II, blz. 1.

Phagocytose in het dierenrijk.

Macrophagen en microphagen.

Beschrijving van de microphagen.

Beschrijving van de macrophagen.

HOOFDSTUK III, blz. 23.

Beteekenis der phagocytose voor de genezing van infectieziekten.

De antibacteriële serumstoffen. Extracellulaire bacteriolyse in het dierlijk lichaam uitzondering, intracellulaire vernietiging regel.

Macrophagen en haemolysinen. Cytase en haemolytische fixateur.

Microphagen en bacteriolysinen. Cytase en bacteriolytische fixateur.

De cytase komt niet vrij in het levende plasma voor, de fixateur wel.

Zijn de serumbacteriolysinen van phagocyttairen oorsprong?

Hebben de microphagen van het actief geïmmuniseerde dier hun anti-bacteriële vermogens versterkt?

HOOFDSTUK IV,

blz. 41.

Mislukte experimenten.

Pogingen om uit te maken of bij een herhaalde infectie weer microphagen optreden, die bij een vorige infectie werkzaam zijn geweest.

Bactericiëde leucocytenwerking in vitro.

Litteratuur. Eigen experimenten.

Degenerereen van de polynuceaire ontstekingscellen in vitro. Geen zekere bactericiëde werking van deze cellen in vitro aangetoond.

HOOFDSTUK V,

blz. 64.

Degenerereen van de polynuceaire ontstekingscellen in vivo. Litteratuur.

Structuur der sereuze vliezen.

De degenererende ontstekingscellen worden door de macrophagen opgenomen en gedigereerd.

De polynuceaire leucocyten verdwijnen weer geheel uit den ontstekingshaard. Op die plaatsen waar blijkbaar de antistoffen worden gevormd vindt men ze niet terug.

HOOFDSTUK VI,

blz. 83.

Onderzoek over de experimenteele peritonitis bij de cavia, teweeg gebracht door injectie van een suspensie van *Vibrio Metchnikoff*.

Methode van onderzoek.

Beschrijving van de cellen in het normale transudaat van de buikholte der cavia.

De veranderingen van dit cellenbeeld bij de ontsteking (V. M.).

De degeneratie der microphagen in den ontstekingshaard en elders.

De leucophagie.

Het lot der macophagen, die de leucophagie hebben uitgeoefend.

HOOFDSTUK VII,

blz. 114.

Algemeene gevolgtrekkingen uit de besproken onderzoekingen.

De macrophagen, die de bacterio- en leucophagie uitoefenen verzekeren in laatste instantie de genezing der infectieziekten en het verwerven der immuniteit.

Het vraagstuk der phagolyse.

Eenheid der cytasen.

Zuurstofhonger der phagocyten. Microaërobiose der bacteriën in de weefsels.

I.

Sedert het tijdstip, waarop de factoren, die het weerstandsvermogen der dierlijke organismen tegenover een infectie bepalen, de aandacht zijn begonnen te trekken, hebben zich twee min of meer uiteenlopende leerstellingen ontwikkeld, die van het wezen der immuniteit een verklaring willen geven.

Wel is waar zijn deze beide opvattingen langzamerhand op sommige punten nader tot elkaar gekomen, maar hare principieele verschillen hebben ze m. i. toch onverzwakt behouden.

De z.g. humorale theorie verklaart, dat de natuurlijke, zoowel als de verworven immuniteit, afhankelijk zijn van de eigenschappen der lichaamsvochten. Deze eigenschappen hangen dan wel weer op haar beurt af van de functie der cellen, die het dierlijk lichaam opbouwen, maar bij de directe verdediging van het organisme tegen pathogene microben spelen de lichaamsvochten en niet de cellen de hoofdrol.

Toch erkennen tegenwoordig de meeste van haar aanhangers de juistheid van het door Metchnikoff,¹⁾ Bordet, Bail²⁾ e. a. bewezen feit, dat de extracellulaire bacteriolyse, waaraan velen, na het ontdekken van de bactericide werking van het bloedserum door Buchner, de immuniteit wilden toeschrijven slechts in sommige kunstmatige gevallen voorkomt en dan nog maar bij enkele vibrionen³⁾; ja, een groot aantal

¹⁾ (I) Elie Metchnikoff. *L'Immunité dans les maladies infectieuses* 1901.

(II). Dezelfde in Kolle u. Wassermann, *Handbuch der pathog. mikro-org.* Bd. II 2. Aufl. 1913.

²⁾ Bail. *Untersuchungen ueber Typhus- und Cholera-Immunität.* Arch. f. Hyg. Bd. 52.

³⁾ Zie o. a. de uitlating van Citron, *Die Methoden der Immunodiagnostik und Immunotherapie.* 2. Aufl. 1912; S. 253.

van hen geeft zelfs toe, dat de z.g. bacteriotrope stoffen slechts van nut zijn, doordat zij de bacteriën tot opname door de phagocyten geschikt maken: deze stoffen vormen dan toch volgens hen de factoren, die in den strijd van het dier met de microben den doorslag geven.

De phagocytaire theorie daarentegen, ontkent wel geenszins het belang der in de lichaamsvochten aanwezige antistoffen, maar zij acht ze voor een doelmatige afweering van de infectiekiemen niet onontbeerlijk. Daarenboven beschouwt zij deze stoffen niet als de producten van de lichaamscellen in het algemeen, maar als uitsluitend van de phagocyten afkomstig.

Dit laatste wordt door de meeste immuniteits-onderzoekers tegenwoordig nog bestreden. Integendeel, zeggen zij, deze anti-lichamen danken hun ontstaan aan alle levenskrachtige cellen, die tengevolge van de chemische samenstelling van hun protoplasma vatbaar zijn voor de inwerking der bacteriën-stoffen. Juist door het innige contact waarmede deze met de „antigenen” in aanraking komen, zijn zij in staat met de vorming van antistoffen te reageeren. Ehrlich, de grondvester van deze theorie, heeft dit door een schema trachten duidelijk te maken.

Het is niet mijn bedoeling hier nader op deze leerstelling en haar talrijke hulphypothesen in te gaan. Alleen wil ik de aandacht vestigen op het feit, dat, evenals Metchnikoff, de schepper der phagocytaire theorie, de intracellulaire digestie der bacteriën vergeleek met het voedingsmechanisme van de cellen der lagere dieren, zoo ook Ehrlich bij zijn beschouwingen een vergaande analogie aanneemt tusschen de binding en het onschadelijk maken van toxinen door de cellen van de weefsels en de wijze waarop deze de voedings-

stoffen uit de lymphe in zich opnemen en tot vertering brengen.

Daar ik zelf de studies van Metchnikoff tot uitgangspunt voor mijn onderzoekingen over het tot stand komen van de verworven immuniteit heb genomen, wil ik hier in het kort bespreken, hoe deze geleerde zich het ontstaan daarvan denkt.

Metchnikoff stelt zich voor, dat in geval van verworven immuniteit de phagocyten van het geïmmuniseerde dier zich als het ware geoefend hebben om antistoffen te vormen, die maken, dat de bacteriën gemakkelijker en sneller binnen hun bereik vallen; maar bovendien ook, *dat zij beter dan te voren in staat zijn bacteriën intracellulair te vernietigen*. Dit laatste ligt voor de hand als men met Metchnikoff aanneemt, dat de antibacterieele serumstoffen dezelfde fermenten zijn, die de phagocyt voor de intracellulaire digestie van microben produceert.

Nu is het bewijs van deze stelling buitengewoon moeilijk te leveren. Men kan n.l. wel zeer goed aantoonen, dat de pathogene micro-organismen in het lichaam van een geïmmuniseerd dier sneller door de phagocyten worden opgenomen en gemakkelijker worden vernietigd; maar dit kan best door de werking van de plasmavochten alleen worden verklaard. Vooral sedert Wright¹⁾ op zoo eenvoudige wijze de werking dezer „opsonische” stoffen heeft leeren nagaan en daarbij gevonden heeft, dat de opname van bacteriën in leucocyten wel in sterke mate afhankelijk is van het serum, waarin deze cellen vertoeven, maar dat het daarbij onverschillig is of men leucocyten van een al- of niet-geïmmuniseerd dier neemt en dat zelfs de werking van menschelijke leucocyten weinig van die

¹⁾ Wright. Studien ueber Immunisierung. Jena 1909.

van konijnenleucocyten verschilt, wanneer men ze maar in hetzelfde serum brengt, zou men geneigd zijn aan oefening der phagocyten van het immune dier niet meer te gelooven.

Toch moet men hierbij twee dingen niet vergeten. Ten eerste, dat de onderzoekingen van Wright alleen de opname der microben in het celprotoplasma betreffen, niet het doden en vernietigen, de intracellulaire digestie ervan. Het zou immers zeer goed kunnen wezen, dat deze laatste functie hoofdzakelijk door de bijzondere eigenschappen van de phagocyt werd bepaald, terwijl de enkele opname van de bacteriën slechts van de eigenschappen van het medium afhing. In de tweede plaats moet men bedenken, dat Wright werkt met door natriumcitraat vergiftigde en door de mechanische invloeden van het centrifugeeren getroffen leucocyten, die mogelijk veel van hun oorspronkelijke eigenschappen hebben verloren.

Reeds verscheidene jaren tevoren hadden Denys en Leclef¹⁾ getracht in vitro een versterking van het phagocytair vermogen der immuun-leucocyten aan te toonen; maar zij waren daarin niet geslaagd. Naar aanleiding van deze mislukkingen zegt Metchnikoff dan ook: „Il est impossible de nier que la suractivité des phagocytes que l'on trouve constamment dans cette immunité, bien que très facile à observer, ne peut être démontrée d'une façon rigoureuse en dehors des liquides qui baignent les cellules.”.

Nu zijn er echter enkele gevallen van verworven immuniteit bekend, waarbij men met aan zekerheid grenzende waarschijnlijkheid een noemenswaardig aandeel van de lichaamsvuchten aan de nieuw verkregen

¹⁾ La Cellule 1895. T. XI, p. 177, aangehaald naar Metchnikoff l. c. (I).

eigenschap kan uitsluiten. Wanneer men n.l. een dier tegen een bepaalden microbe immuniseert, zoodat het dier zonder gevaar meer dan honderdmaal zooveel bacteriën kunnen worden ingespoten, als vroeger stellig voldoende zouden zijn geweest om het te dooden, dan moet men, indien het waar is, dat de immuniteit alleen op humorale eigenschappen berust, verwachten, dat deze eigenschap door middel van het bloedserum op andere, niet voorbehandelde dieren van dezelfde soort is over te dragen.

Dit nu was niet het geval bij de cavia's, die Wernicke¹⁾ en De Nittis²⁾ tegen miltvuur immuniseerden. Wel is waar gelukte het aan Marino³⁾ met zeer veel moeite bij sommige zeer sterk tegen hetzelfde microorganisme geïmmuniseerde cavia's een zekere mate van praeventieve werking van het bloedserum aan te toonen, maar deze was zeer onbeduidend en bij lange na niet in evenredigheid met de sterke immuniteit van de serumleveranciers.

Dergelijke feiten waren reeds te voren door Sobernheim⁴⁾ waargenomen bij de verworven immuniteit van sommige rammen tegenover miltvuurbacillen, en Von Behring⁵⁾ rekent dan ook dit geval tot de groep der phagocytaire immuniteit. Metchnikoff constateert met vreugde deze verklaring van een tegenstander, die jarenlang alle beteekenis aan de phagocyten voor de immuniteit ontzegde.

¹⁾ Niet gepubliceerde experimenten, vermeld door Metchnikoff in *Kolle u. Wasserm.* Bd. II p. 701

²⁾ *Ann. Past.* 1901, T 15, p. 769.

³⁾ Vermeld door Metchnikoff l. c. (II).

⁴⁾ *Zeitschr. f. Hyg.* 1899. Bd. 31; S 89. Geciteerd door Metchnikoff l. c. (II).

⁵⁾ *Enzyklopädi Jahrbücher* 1900. Bd. 9; S 203. Geciteerd door Metchnikoff l. c. (II).

Maar absolute zekerheid, dat bij dit geval van verworven immuniteit uitsluitend phagocytair functies een rol van beteekenis vervullen, heeft men ook hier nog niet. Immers, men zou kunnen zeggen, dat de verworven immuniteit niet afhankelijk behoeft te zijn van de op het oogenblik der infectie reeds aanwezige en dadelijk beschikbare antistoffen, maar dat deze laatsten dan nog bliksemsnel door de daarop ingestelde organen gevormd kunnen worden, zonder dat de phagocyten hierbij in het spel behoeven te komen.

De vraag, of er bij de geïmmuniseerde dieren een „perfectionnement des phagocytes à digérer leur proie” is tot stand gekomen, van zoo groot belang voor een juist begrip der verworven immuniteit, is hiermee dus niet beslist.

Waar ook de weinige onderzoekingen daarover door anderen gepubliceerd, haar m. i. niet hebben opgelost, besloot ik daarom een poging te wagen haar experimenteel te beantwoorden.

Hoe ik in den loop van mijn onderzoekingen er toe kwam mijn vraagstelling te veranderen, zal ik in de volgende bladzijden beschrijven.

II.

Het vermogen van cellen om corpora aliena door middel van amoëboïede bewegingen in zich op te nemen en deze vervolgens, zoo ze daartoe geschikt zijn, te verteren, is door het geheele dierenrijk heen zeer verbreid.

Reeds lang is bekend, dat eencellige organismen op deze wijze in hun voeding voorzien. Bij de metazoën heeft al spoedig een differentiatie plaats in dier voege, dat alleen de cellen van het entoderm op deze wijze het voedsel tot zich nemen. De coelenteraten, sommige tot de vermes behorende organismen en enkele mollusken voeden zich aldus.

Bij de hoogere evertebrata treedt echter steeds meer de digestie van het in den darm geraakte voedsel door uitgescheiden spijsverteringssappen op den voorgrond. Het vermogen om door amoëboïede bewegingen partikeltjes op te nemen en zoo mogelijk te verteren, gaat echter, zoowel bij deze dieren als bij de vertebrata, niet voor alle cellen van het organisme verloren.

Maar het zijn nu niet meer de cellen van het entoderm, die dit vermogen bezitten (ik heb tenminste in het mij toegankelijke deel van de litteratuur geen enkel feit kunnen vinden, dat bewijst dat bij de vertebrata entodermcellen nog deze functie kunnen uitoefenen); doch in hoofdzaak de cellen van het daaruit of daarnaast ontstane mesoderm (resp. mesenchym); terwijl ook die van het ectoderm hier en daar tot het verrichten van een dergelijke taak in staat blijken te zijn.

Metchnikoff heeft alle cellen, die in staat zijn corpora aliena door actieve bewegingen in zich op te

nemen, bestempeld met den algemeenen naam van *phagocyten*. Onder dezen naam vat hij dus wel vogels van zeer diverse pluimage samen! Het woord phagocyt, vreetcel, duidt dan ook slechts een physiologische functie aan, geënszins echter een anatomische en nog veel minder een genetische overeenkomst.

Verreweg de belangrijkste plaats onder de phagocyten wordt ingenomen door cellen van mesenchymateuze herkomst. (Ik wil in dit verband, zoowel hier als later, geen onderscheid maken tusschen cellen afkomstig van het mesenchym en die afkomstig van het mesoderm). Van de cellen van het ectoderm zijn maar enkele vormen nog bij de hoogste dieren in staat als phagocyten op te treden.

De beteekenis, die de phagocyten voor het leven van de veelcellige organismen hebben, is een enorm groote. Hun belangrijkste werk bestaat in het opvreten van andere cellen van het eigen organisme, en wel van zulke cellen, die haar functioneele beteekenis hebben verloren; hetzij, dat deze door veranderde anatomische en physiologische verhoudingen onnoodig en ongewenscht zijn geworden, hetzij, dat zij door ziekte of ouderdom niet meer in staat zijn haar taak naar behooren te vervullen. Waarschijnlijk kan men dit zoo opvatten, dat alle cellen van het dierlijk lichaam, die niet meer in staat zijn zich daartegen te verzetten, door phagocyten worden opgevreten. Hoe bij de evertabrata geheele organen bij de metamorbose der larven aldus door vreetcellen worden vernietigd, hebben Van Rees, Metchnikoff en Kowalewsky aangetoond.

Hetzelfde geldt trouwens ook voor de metamorphen, die de kikvorschen en verwante dieren doormaken.

Ook bij het te gronde gaan van verschillende cellen van het volwassen zoogdier-organisme, spelen phagocyten

nog een groote rol. Zoo worden reeds bij het gezonde dier voortdurend roode en witte bloedlichaampjes door phagocyten opgevreten en zijn het, om een ander voorbeeld te noemen, eveens vreetcellen, die de door ouderdom verzwakte gangliëncellen van het centrale zenuwstelsel doen verdwijnen. In pathologische gevallen kunnen dergelijke processen een omvang aannemen, die de bij de metamorphen der lagere dieren waargenomen verschijnselen evenaart.

Uit deze reactie der phagocyten zich reeds tegenover cellen van het eigen organisme, in nog sterker mate heeft zij plaats, wanneer vreemde cellen of corpora aliena van anderen aard in het lichaam binnendringen. In dit geval worden de vreemde elementen, het mogen nu dierlijke cellen, bacteriën of andere dingen zijn, door phagocyten aangevallen en zoo mogelijk in het protoplasma van deze cellen opgenomen en verteerd.

Pathogene microorganismen kunnen op deze wijze worden gedood of althans onschadelijk gemaakt en het is in dit mechanisme, dat Metchnikoff het verweermiddel van het dierlijk lichaam tegenover binnengedrongen ziektekiemen ziet.

De phagocytose van bacteriën is dus slechts een bijzonder geval van een in het leven der dieren zeer veelvuldig voorkomend verschijnsel.

Nu zijn alle phagocyten in staat bacteriën en andere corpuscula van dezelfde grootte-orde in zich op te nemen; ten minste zoo deze zich niet door actieven of passieven weerstand daartegen weten te verzetten. Niet alle phagocyten zijn echter in staat, om cellen van het eigen organisme of andere dierlijke cellen op te vreten.

De cellen, die het vermogen hebben om andere cellen van hetzelfde dier te phagocyteeren, worden macrophagen genoemd; de phagocyten, die dat niet

kunnen, microphagen.¹⁾ De eerste zijn meestal grooter dan de laatste, vandaar dan ook de naam.

De macrophagen kunnen zoowel sessiele als mobiele vormen aannemen; zij allen hebben het vermogen zich door mitose voort te planten. De microphagen hebben dit vermogen verloren, althans wat hun vol ontwikkelde vormen betreft. Het zijn uitsluitend mobiele vormen, die het in snelheid van beweging in het algemeen van de macrophagen winnen.

Behalve door hun fundamenteele physiologische verschillen, onderscheiden de macro- en microphagen zich ook door anatomischen bouw.

Bij de meeste visschen is een dergelijke anatomische onderscheiding nog niet te maken; een physiologische differentiëring tusschen beide vormen van phagocyten is daar dus ook niet vast te stellen.

In de rij der hoogere vertebrata vertoonen beide groepen van cellen echter duidelijk herkenbare verschillen. Toch is het niet mogelijk een kenteeken te noemen, waaraan bij al deze dieren beide vormen constant zijn te onderkennen.

Over het algemeen kan men zeggen, dat de microphagen gevormd worden door de z.g. polynucleaire gekorrelde leucocyten. Alle niet tot deze rubriek behoorende phagocyten zijn macrophagen of ten minste in staat, zich daartoe te ontwikkelen.

Allereerst wil ik hier nu een beschrijving geven van de vormen, die als microphaag kunnen optreden; daarna zal ik spreken over de macrophagen.

¹⁾ Metchnikoff zelf geeft de definitie van de begrippen macrophaag en microphaag niet precies in dezen vorm, maar stelt de morphologische verschillen op den voorgrond. Op deze wijze zijn ze echter niet nauwkeurig te formuleeren. Het schijnt mij daarom juister deze begrippen op functioneelen grondslag te plaatsen, overeenkomstig het gebruik, dat algemeen van deze woorden gemaakt wordt.

De z.g. polynucleaire leucocyten onderscheiden zich bij alle vertebrata, waar zij voorkomen, door een kern, die op sommige plaatsen zoo diep is ingesnoerd, dat de verschillende deelen nog maar door middel van uiterst dunne, nauwelijks zichtbare draadjes met elkaar samenhangen. De veelkernigheid is dus slechts schijnbaar en in werkelijkheid hebben deze cellen niet meer dan één kern. (Dat in enkele gevallen de afsnoering zoo ver kan gaan, dat een werkelijke veelkernigheid kan ontstaan, wil ik hier terzijde laten). Men heeft daarom voorgesteld den naam van polynucleaire leucocyten te vervangen door dien van polymorphkernige leucocyten; maar ook dit is m. i. niet juist om deze cellen te karakteriseeren.

Immers, onder de groote mononucleaire cellen, die men stellig van deze elementen moet onderscheiden, komt het vrij vaak voor, dat de kern uit twee of drie logge, met breede basis samenhangeende kwabben bestaat en dus ook polymorph genoemd zou kunnen worden. Meer onze bedoeling weergevend zou dan ook het woord pseudo-polynucleair zijn; alleen is dit wel wat te lang en daarenboven: verba valent usu.

Daareven heb ik al opgemerkt, dat in sommige gevallen deze cellen een werkelijke veelkernigheid kunnen vertoonen. Dit is b.v. het geval met de door amitotische kerndeeling ontstane binucleaire eosinophile cellen, die wij later in de peritoneaalholte van de cavia zullen aantreffen; evenzoo vindt men geregeld een dergelijk verschijnsel bij de degenereerende polynucleaire leucocyten.

Men heeft daarom gezocht naar een ander kenmerk, dat de tot deze rubriek behoorende cellen overal waar zij worden aangetroffen, zouden vertoonen.

Reeds Wharton Jones had opgemerkt, dat de witte bloedlichaampjes te onderscheiden waren in gekorrelde en ongekorrelde vormen.

Max Schulze nam in onderzoekingen aan het levende object waar, dat de gekorrelde leucocyten waren te verdeelen in fijn-korrelige en grof-korrelige elementen. Aldus bleken de z.g. polynucleaire leucocyten naast het kenteeken van den bijzonderen kernvorm dat van de korreling te bezitten en ook nog naar den aard dier korreling te verschillen.

Ehrlich zette de studie van deze korrelingen voort, door de leucocyten van verschillende diersoorten met de moderne aniline-kleurstoffen te behandelen. Naar gelang van de kleur, die de korrels hierbij aannamen, onderscheidde hij aanvankelijk 5 vormen: de α , β , γ , δ en ϵ granulatie. De δ granulatie is nooit nader beschreven geworden; de α , de γ en de ϵ korreling, die hij in de cellen van het menschelijk bloed had gevonden, werden later met den naam van acidophile of eosinophile, basophile en neutrophiele korreling aangeduid. De α en de ϵ granulatie bleken overeen te komen met de grove, resp. fijne door Max Schulze beschreven korrels. De β granulatie was een korreling, die Ehrlich in de polynucleaire leucocyten van het konijn en de cavia vond; omdat deze zich zoowel door zure als basische stoffen lieten kleuren, noemde hij ze amphophiel, later ook pseudo-eosinophiel, waar deze korrels evenals die der eosinophiele cellen, b.v. met de kleuring volgens Romanowsky, eosine-rood worden.

Het bleek al spoedig, dat de cellen met deze korrels geheel overeenkwamen met de neutrophiel-korrelige cellen van den mensch. Daar, waar ook aan deze cellen homologe vormen bij verschillende diersoorten voorkomen, de korreling altijd veel fijner is dan bij de

z.g. echte eosinophiele cellen, behoudt dus de indeeling van Schulze haar kracht; terwijl die, welke op het vermogen van de korrels berust om zure, basische of neutrale kleurstoffen te binden tot het scheiden en samenvoegen van zeer ongelijksoortige elementen aanleiding geven en daardoor verwarring stichten kan.

De basophile korrelingen zijn echter, voor zoover mij bekend, alleen door kleurmethoden als zoodanig te herkennen. Tot welke onjuiste conclusies het homologiseeren van cellen met door basische stoffen kleurbare korrels leidt, hebben Maximow en Weidenreich aangetoond. Zoo moet men niet alleen een groot verschil maken tusschen cellen met dergelijke korrels bij cellen in het bloed en zulke in het bindweefsel, maar men mag zelfs niet eens de bij verschillende zoogdieren in het bloed voorkomende cellen met elkaar op een lijn stellen. Het is daarom niet mogelijk het „basophile” van een korreling als typiseerend kenmerk te aanvaarden; al komt het natuurlijk niet bij mij op, te ontkennen, dat de in het bloed voorkomende z.g. „Mastzellen” van Ehrlich, waarvan men bovendien de moedercellen in het beenmerg heeft aangetoond, een uitgesproken type vormen.

Of deze bloedcellen phagocytair vermogen hebben, kan ik niet zeggen; zooveel is zeker, dat zij quantitatief geheel op den achtergrond treden.

Afgezien van deze cellen worden de microphagen dus gevormd door de fijnkorrelige (neutrophiele, resp. amphophile) polynucleaire leucocyten en de grofkorrelige eosinophiele s.s. Verreweg de belangrijkste plaats nemen hierbij de fijn-korrelige cellen in.

Ten slotte wil ik nog opmerken, dat de fijne korreling van de tot deze groep behorende polynucleaire cellen bij de kikvorschen en enkele verwanten soorten ont-

breekt. Men vindt daar polynucleaire cellen zonder korreling, die echter functioneel volkomen met de hier bedoelde microphagen overeenkomen. Bij de hoogere vertebrata is de fijne korreling echter constant in het protoplasma der homologe vormen aanwezig, daarenboven is zij in de levende cel reeds duidelijk te herkennen.

Dit geldt niet voor korrelingen van de cellen, die tot de groep der lymphocyten behooren. Hier komen wel af en toe korrelingen voor; maar deze zijn ten eerste zeer inconstant en ten tweede niet in het levende object zichtbaar en alleen met bijzondere kleurmethoden aan te toonen. Daar de lymphocyten of reeds macrophagen zijn, of het door groei kunnen worden, en alle andere macrophagen bovengenoemde negatieve kenmerken met de eigenlijke lymphocyten gemeen hebben, heb ik hiermee dus reeds een belangrijk anatomisch onderscheid tusschen micro- en macrophagen genoemd. Daarnaast komt nu als tweede verschil het volgende.

De macrophagen zijn nooit pseudo-polynucleair, zooals de microphagen. Meestal zijn ze mononucleair, soms ook hebben ze meer kernen; maar men kan hieromtrent nooit in twijfel zijn. Daarenboven kan men wel zeggen, dat wanneer er meer dan een kern is, deze ieder altijd veel grooter zijn dan de deeltukken van een z.g. polynucleaire fijnkorrelige cel.

Maar het belangrijkste middel om de macrophagen te herkennen, en dat, welk ten slotte den doorslag geeft, is wel de waarneming, dat zij hun functie als zoodanig uitoefenen.

Vindt men n.l. in het protoplasma van een cel een andere cel van hetzelfde organisme of een duidelijk als zoodanig herkenbaar overblijfsel daarvan, dan kan men volgens de vroeger door mij gegeven definitie met

zekerheid besluiten, dat men met een macrophaag te doen heeft. Zooals van zelf spreekt kunnen ook cellen van een andere soort, waarvan men bij ervaring weet, dat zij alleen door macrophagen worden opgenomen, tot dit besluit leiden.

Dit is nu voor de meeste dierlijke cellen het geval. Maar toch niet voor alle. Zoo worden b.v. de spirillen van de febris recurrens, die toch als dierlijke wezens worden beschouwd (in tegenstelling met de bacteriën, die als plantaardige cellen worden opgevat), wel degelijk door de microphagen opgenomen.

De celvormen, die als macrophagen kunnen optreden, zijn van veel grooter verscheidenheid, dan bij de microphagen het geval is. Zij kunnen sessiel of wel mobiel zijn. Deze beide toestanden kunnen in elkaar overgaan; sessiele macrophagen kunnen mobiel worden en mobiele sessiel.

Het belangrijkste deel van de macrophagen wordt gevormd door de groote groep van cellen, aan het eene uiteinde waarvan de lymphocyten staan en aan het andere de bindweefselcellen.

De geboorteplaatsen van de lymphocyten zijn de adenoïede weefsels. Door het geheele lichaam heen treden deze weefsels in allerlei uiteenlopende vormen op. Aan den rand van de z.g. lymphfollikels ontstaan hier, door mitotische deeling van de eenigszins grootere vormen, de jonge lymphocyten. Deze cellen, aanvankelijk klein en met een zeer smallen rand protoplasma, kunnen nu opgroeien tot groote elementen met een volumineuse kern en een breeden protoplasma-zoom, cellen, die een exquisiet macrophagenkarakter hebben.

Volkomen met deze stemmen de cellen overeen, die door het losraken van de reticulum- of endotheelcellen

van het adenoïede weefsel vrij komen, zoodat een onderscheid tusschen de op deze beide wijzen ontstane macrophagen niet te maken is. Van belang is, dat al deze vormen in staat zijn zich mitotisch te deelen en aldus cellen te leveren, die geheel gelijk zijn aan de lymphocyten van de follikels. Ribbert, Marchand, Dominici, Benaut en Weidenreich¹⁾ meenen dan ook, dat de cellen van de kiemcentra aldus uit de vaste steun- en endotheelcellen zijn ontstaan.

Den hier beschreven ontwikkelingsgang der macrophagen vindt men terug in alle z.g. lymphoïede organen, in de eerste plaats in de eigenlijke lymphklieren; verder in de tonsillen, de agmina Peyer's, de „taches laiteuses” van het net en in de andere lymphocytencentra van het bindweefsel. Hetzelfde proces heeft ook plaats in de follikels van de milt; ja, de vorming van macrophagen heeft in dit orgaan een zoo uitgebreiden en grooten omvang, dat Metchnikoff de milt het „organe macrophagique par excellence” noemt. Hier worden reeds bij het gezonde dier vele witte en roode bloedlichaampjes uit het bloed teruggehouden en door de macrophagen opgevreten, en dit geschiedt onder pathologische omstandigheden op nog veel grooter schaal.

Het is waarschijnlijk, dat de cellen, die in het beenmerg als de moedercellen van de gekorrelde leucocyten worden beschouwd en die naar haar uiterlijk geheel met groote lymphocyten overeenkomen, op dezelfde wijze uit de steun- en endotheelcellen van het mergweefsel zijn ontstaan. Deze opvatting is natuurlijk alleen aannemelijk voor hen, die geen essentieel verschil tusschen deze moedercellen en de eigenlijke

¹⁾ Weidenreich. Die Leukocyten und verwandte Zellformen Wiesbaden, 1911; S 227.

lymphocyten kunnen zien. Naegeli, Türk en Schridde¹⁾ verzetten zich echter heftig tegen een dergelijke meening en willen deze cellen, de myeloblasten, streng van de lymphoïede cellen scheiden. Zij hebben daarom gezocht naar allerlei subtiële onderscheidingen tusschen beide groepen van cellen als daar zijn, het al of niet voorkomen van met bijzondere methoden aantoonbare stipjes, het al of niet geven van fermentreacties, die voor de gekorrelde elementen specifiek zouden zijn.

M. i. is het onmogelijk op deze wijze ooit de vraag te beslissen.

Immers, wanneer het juist zou zijn, dat echte lymphoïede cellen zich in de richting van myelocyten kunnen ontwikkelen, moeten de nieuwe eigenschappen, die daarvan het gevolg zijn, toch ergens voor het eerst optreden en het kan dus nooit een reden zijn, wanneer men b.v. ziet, dat sommige lymphocyten een bepaalde fermentreactie, die voor de gekorrelde elementen specifiek is, niet geven, en andere, die naar hun uiterlijk volkomen met de eersten overeenkomen, wel, om daaruit te besluiten, dat men beide groepen van overigens zoo gelijke cellen fundamenteel van elkaar moet scheiden.

Naar veler meening geeft de z.g. unitarische theorie van de bloedcellenvorming dan ook een geheel bevredigende verklaring van de tot dusverre bekend geworden verschijnselen en is de z.g. dualistische opvatting noodeloos gecompliceerd.

Hoe dit ook zij, voor mijn thema is slechts van belang, dat de z.g. myeloblasten, het mogen dan lymphoïede cellen zijn of niet, vermoedelijk macro-

¹⁾ De verdediging van de dualistische theorie vindt men o.a. in het boek van Naegeli, *Blutkrankheiten und Blutdiagnostik*. 2. Aufl. 1912; die van de unitarische bij Weidenreich l. c.

phagen zijn. Tenminste Blumental¹⁾ heeft in het beenmerg van konijnen ongekorrelde mononucleaire beschreven, die erythroblasten zoowel als kernlooze erythrocyten hadden opgenomen en intracellulair verteerden. In eigen onderzoekingen aan het beenmerg van de cavia kon ik hetzelfde waarnemen en bovendien vond ik daar ook zulke macrophagen, die polynucleaire leucocyten hadden opgevreten.

In de sereuze holten oefenen reeds normaliter talrijke cellen de functie van macrophagen uit door de daarin aanwezige roode bloedlichaampjes te phagocyteeren. Bij ontstekingsprocessen vertoonen de macrophagen daar een zeer groote activiteit.

Bij de beschrijving van mijn eigen experimenten zal ik den aard en de functie van deze cellen uitvoerig bespreken; maar nu wil ik er reeds op wijzen, dat de cellen ook hier zoowel uit reeds aanvankelijk mobiele elementen als uit vaste cellen van bindweefselnaatuur kunnen ontstaan. Zoo ontwikkelen zij zich eenerzijds uit de verspreid of in lymphoïede ophooping in het net aanwezige lymphocyten, anderzijds uit de endotheelcellen van de sereuze vliezen en de daarmee samenhangende fibroblasten. Dominici, die het ontstaan van de macrophagen in de sereuze holten en in de adenoïede weefsels onderzocht, komt dan ook tot de volgende uitspraak:²⁾

„Les macrophages sont des cellules conjonctives.

„En effet, qu' ils dérivent de cellules primitivement „mobiles ou de cellules fixes mobilisées, leurs éléments „d'origine sont des cellules conjonctives.”

Nauw met de tot dusverre besproken cellen verwant

¹⁾ Blumental. *Fol. Haematol.* Bd. VI, S. 193, 1908.

²⁾ Dominici. *Archives de Médecine expérimentale.* T XIV, 1902, p. 62.

zijn de endotheelcellen van de bloedvaten en de z.g. adventitiacellen van Marchand. Ook deze cellen kunnen zich in de richting van de macrophagen ontwikkelen.

Hoe het te dezen opzichte gesteld is met de fibroblasten van het subcutane en intermusculaire bindweefsel staat nog niet geheel vast.

Maximow,¹⁾ die over deze vraag de meest schitterende onderzoeken heeft gedaan, meent bij ontstekingsprocessen bijna altijd de scheiding tusschen de echte bindweefselcellen, de fibroblasten, en de reeds van te voren mobiele elementen, de polyblasten, te kunnen volhouden, al geeft ook hij de mogelijkheid van overgangen in enkele gevallen toe. De mobiel geworden fibroblasten oefenen volgens hem zelden of nooit een macrophagen-functie uit, maar laten dit geheel over aan de polyblasten.

Andere onderzoekers, die de cellen van het net bestudeerden, konden daarentegen geen aanleiding vinden de uit de fibroblasten van het net ontstane mobiele cellen van de uit de reeds aanvankelijk mobiele gegroeide te onderscheiden. Er is hier dus een nog moeilijk te beslissen meningsverschil.

Later zal ik nog uitvoerig op deze strijdpunten terugkomen en dan ook de litteratuur wat uitvoeriger bespreken.

De tot dusverre genoemde macrophagen hebben, behalve hun genetische verwantschap en hun functie, nog een andere belangrijke eigenschap gemeen, n.l. het vermogen om zich door mitotische deeling voort te planten.

¹⁾ Maximow (I). Experimentelle Untersuchungen ueber die entzuendliche Neubildung von Bindegewebe. Supplementheft der Beitr. z. alg. Path. u. path. Anat. 1902.

Dit kunnen de polynucleaire gekorrelde leucocyten niet meer. Wel waren hun gekorrelde eenkernige moederzellen, de myelocyten, nog daartoe in staat ¹⁾ maar met de verandering van de kern in de richting van de polymorphie gaat deze eigenschap verloren.

Nu is het directe bewijs van deze bewering niet te leveren. Zooals Weidenreich ²⁾ terecht opmerkt, kan men aan een kern, die in mitose verkeert, niet meer zien of zij in het stadium, dat aan de mitose voorafging, compact of gelobd was.

Dat een compacte kern van een gekorrelde leucocyt, die niet slechts niervormig ingedeukt maar zelfs licht gebogen, tot hoefijzervormig toe, geworden is, zich nog wel mitotisch deelen kan, schijnt mij uit de publicaties van Flemming ³⁾ en Jolly (l. c.) vrij zeker te volgen. Dat echter een door multiple insnoeringen gelobde kern, als de tot volle ontwikkeling gekomen polynucleairen vertoonen, nog in mitose zou kunnen overgaan, is niet alleen moeilijk denkbaar, maar er is nooit iets waargenomen, wat daarvoor zou pleiten.

Metchnikoff ⁴⁾ en andere schrijvers hebben nu de meening uitgesproken, dat de polynucleairen zich door amitose zouden kunnen vermeerderen. Waar is het, dat deze cellen onder zekere omstandigheden verschijnselen van amitose kunnen vertoonen. Voornamelijk in levende praeparaten zijn dergelijke dingen waargenomen; zoo ook in exsudaten. Ik sluit mij echter volkomen aan bij de door Weidenreich uitgesproken meening (Ik volsta hier met te verwijzen naar de besprekingen van dezen

¹⁾ Jolly. *Recherches sur la division indirecte des cellules lymphatiques granuleuses de la moëlle des os.* Arch. d'Anat. microsc. T 3, p. 168.

²⁾ Weidenreich. *Archiv. f. mikrosk. Anat.* 1908, B 72, S. 271.

³⁾ Flemming. *Arch. f. mikrosk. Anat.* 1891, B 37, S. 249; geciteerd naar Jolly l. c.

⁴⁾ Metchnikoff (III). *Leçons sur la pathologie comparée de l'Inflammation.* Paris, 1892, p. 155.

schrijver (l. c. pg. 274—278) met wiens argumenten ik mij volkomen vereenigen kan.) dat men hier met degeneratie-verschijnselen te doen heeft en er van een vorming van jonge levenskrachtige cellen op deze wijze geen sprake is.

Zijn dus de macrophagen in staat tot het vormen van een levenskrachtige progenituur, de microphagen zijn tot steriliteit gedoemd.

De tot dusverre besproken macrophagen behooren alle tot het „système conjunctivo-vasculaire”. Het zijn deze cellen, die een uiterst belangrijke rol spelen, zoowel bij de genezing van bacteriële infecties als bij het tot stand komen van immuniteit. In het laatste hoofdstuk van dit proefschrift zal ik trachten dit nader uiteen te zetten. Wanneer ik voortaan over macrophagen zal spreken, zijn het deze elementen, die ik op het oog heb. Maar voor ik overga tot de uiteenzetting van de vraagstukken, die de studie van de infectie en de immuniteit betreffen, wil ik eerst nog enkele andere vormen van macrophagen bespreken, die in zekere omstandigheden een taak vervullen in het leven der gewervelde dieren.

In pathologische gevallen kunnen bij den mensch een eigenaardig soort van phagocyten optreden, die bij lagere vertebrata reeds physiologisch een functie hebben uit te oefenen.

Bij de metamorphose der kikvorschen n.l. wordt de vernietiging der spieren van de verdwijnende organen uitgevoerd door cellen, die bestaan uit de door sarcoplasma omgeven spierkernen. Deze cellen vreten het dwarsgestreepte deel van de spiervezels op en be-geven zich daarop met hun buit naar de lymphholte van het peritoneum.

Dergelijke spierphagocyten worden nu ook aange-
troffen bij de pathologische spieratrophieën, die bij den
mensch voorkomen; ¹⁾ zij zijn evenals de vroeger
besproken macrophagen, cellen van mesenchymateusen
oorsprong.

Dit is niet het geval met de uit de neuroglia-
cellen ontstane macrophagen, die bij ouderdom en ziekte de
gangliëncellen van het centrale zenuwstelsel in zich
opnemen. Wel is waar bestaat er over het aandeel, dat
deze cellen en de uit het bloed en het bindweefsel
afkomstige polyblasten aan dit verschijnsel der neuronophagie
hebben, nog veel verschil van meening; maar dat de neuroglia-
cellen daaraan deelnemen wordt weinig
meer betwijfeld. ²⁾

Evenals deze cellen, zijn ook de phagocyten, die het
pigment der haren opvreten en aldus het grijs worden
van den ouderdom veroorzaken, de z.g. chromophagen,
van ectodermalen oorsprong; zij zijn n.l. afkomstig uit
het stratum Malpighi van de huid. ³⁾ Hier is dus het
phylogenetisch zoo oude phagocytair vermogen van
het ectoderm — het wordt reeds gevonden bij hydro-
polypen en actiniën — nog bij den mensch behouden
gebleven.

¹⁾ Litteratuur bij Metchn. l. c. (II) S. 674.

²⁾ Litteratuur bij Metchn. l. c. (II) S. 674 en bij Levaditi et
Pignot. Ann. Past, 1914. T 28. p. 509.

³⁾ Metchnikoff l. c. (II) S. 673.

III.

Metchnikoff heeft zich veel moeite gegeven om aan te toonen, dat bij bacteriële infecties de microphagen het hoofdaandeel hebben in de phagocytose; bij infecties door dierlijke parasieten veroorzaakt, en bij sommige chronische bacteriële infectieziekten als de lepra en de tuberculose zou deze taak door de macrophagen worden overgenomen.

In verband hiermee beschouwt hij de microphagen als de verdedigers van het organisme tegenover de meeste bacteriën; de macrophagen als zoodanig tegenover dierlijke parasieten en enkele chronische infecties veroorzakende bacteriën.

Wel geeft hij toe, dat de macrophagen ook allerlei andere bacteriën kunnen opvreten — een feit trouwens, dat aan iedereen, die b.v. geregeld menselijke sputa onderzoekt, uit dagelijksche ervaring bekend is — maar zij doen dit volgens hem op minder uitgebreide schaal en minder snel en staan in het uitoefenen van deze functie ver bij de microphagen ten achter.

Zoo ziet men, wanneer men bij een cavia cholera-vibrionen in de buikholte inspuit, dat deze in de eerste plaats opgenomen worden door de microphagen en slechts in veel mindere mate door de macrophagen. Verder ziet men de vibrionen in het protoplasma van de microphagen zeer snel in granulair verval komen, terwijl die in de macrophagen langen tijd hun vorm behouden. Wel is waar moet men aannemen, dat ook deze ten slotte dood gaan, maar het schijnt toch veel langzamer dan in de microphagen te gebeuren.

Ook bij infecties van geïmmuniseerde dieren zijn het in de eerste plaats de microphagen, die de bacteriën

phagocyteeren, en wel vertoonen deze daarbij een zoo zeer verhoogde activiteit, dat Metchnikoff niet aarzelt daaraan het versterkte weerstandsvermogen toe te schrijven.

Toen de bacterieele werking der sera van geïmmuniseerde dieren was bekend geworden, meenden velen, dat de vernietiging der bacteriën in het lichaam van het immune dier uitsluitend door die serumstoffen kon geschieden zonder eenige directe medewerking van de levende cellen, met name van de phagocyten. Vooral won deze opvatting veld, toen het aan Pfeiffer gelukte in de peritoneaalholte van de cavia het proces der bacteriolyse aan te toonen. Metchnikoff slaagde er echter in te bewijzen, dat dit slechts een uitzonderingsgeval was, veroorzaakt door het vrij komen van veel complement tengevolge van de plotselinge insputing van vreemde stoffen in de daarop niet voorbereide sereuze holte.

Inderdaad bleef iedere extracellulaire bacteriolyse uit en werd deze geheel vervangen door het verschijnsel der phagocytose, wanneer hij de buikholte had voorbereid op een wijze, die wel cellulaire veranderingen veroorzaakte, maar die de eigenschappen van het in vitro onderzochte bloedserum, dat toch in volledige wisselwerking met het exsudaatvocht van het peritoneum moet staan, ongerept liet.

De feitelijke juistheid van deze proef van Metchnikoff, aanvankelijk door Pfeiffer heftig bestreden, later vooral door Bail¹⁾ bevestigd, wordt thans vrij algemeen erkend.

Daarenboven bleek de extracellulaire bacteriolyse in de buikholte van de cavia alleen bij den vibrio cholerae

¹⁾ Bail l. c.

en enkele verwante vibrionen duidelijk waarneembaar te zijn, maar bij andere microörganismen niet voor te komen.

Verder was het bedoelde verschijnsel bij den vibrio cholerae alleen in de sereuze holten, daarentegen niet bij inspuiting van een vibrionencultuur in het onderhuidsche bindweefsel,¹⁾ in het bloed²⁾ of in de voorste oogkamer¹⁾ te constateeren; dáár werden de vibrionen slechts door phagocytose vernietigd. Evenmin als om deze redenen de extracellulaire bacteriolyse, het opgelost worden van de bacteriën door en in de lichaamsvochten, de oorzaak kan zijn van het te gronde gaan der microörganismen in het lichaam van immune dieren, evenmin is de voorstelling gerechtvaardigd, dat de lichaamsvochten wel is waar meestal niet in staat zijn de bacteriën op te lossen, maar ze wel kunnen doden, waarna de lijken door de phagocyten worden opgenomen. Immers het gelukt dikwijls op een tijdstip, dat wel bij microscopisch onderzoek reeds alle bacteriën in een exsudaat blijken te zijn gefagocyteerd nog levende cultures uit een druppel van dat exsudaat te maken en, wat meer zegt, men kan somtijds bacteriën in het protoplasma van de phagocyt zien bewegen. Baumgarten, die nog aan de opvatting vasthoudt, dat slechts doode bacteriën door de phagocyten kunnen worden opgenomen, staat daarin dan ook vrijwel alleen.

Volgens datgene, wat wij tegenwoordig van dit onderwerp weten, staat m. i. vast, dat de vernietiging van microörganismen in het dierlijk lichaam als regel geschiedt door phagocytose en slechts in enkele uitzonderingsgevallen door de uitsluitende werking van de lichaamsvochten van het aangetaste dier.

¹⁾ Metchnikoff l. c. (I) en (II).

Bordet. Ann. de l'Inst. Past. 1897, p. 462.

²⁾ Bordet. Ann. de la Société des Sciences méd. et nat. de Bruxelles, 1895.

Dat de in vitro geconstateerde bactericiëde serumwerking in vivo niet tot uiting kan komen is ook nog op twee andere wijzen aangetoond.

Ten eerste bleek, dat, waar de bactericiëde serumwerking in vitro in hoogstens enkele uren haar maximum heeft bereikt, de vernietiging van diezelfde bacteriën in het lichaam van immune dieren, uit wier bloed een sterk bactericiëde serum was te winnen, slechts zeer langzaam plaats vond en b.v. na 24 uur de milt en andere organen nog massa's levende bacteriën bevatten.

Ten tweede werd in vitro de bactericiëde werking van een serum opgeheven door de toevoeging van levende orgaancellen. Dergelijke onderzoeken, beschreven door Hoke,¹⁾ v. Dungern,²⁾ Wilde,³⁾ Levaditi,⁴⁾ Bail en Pettersson,⁵⁾ hebben duidelijk gemaakt, dat de in vitro geconstateerde serumwerkingen onmogelijk het mechanisme kunnen verklaren van de immuniteit van het levende dier.

Waar dus nu vrijwel algemeen aangenomen wordt, dat de phagocyten bij de verdediging van het dierlijke lichaam tegen pathogene microörganismen een belangrijke rol vervullen, wordt daarmee toch niet ontkend, dat de eigenschappen der lichaamsvochten ook in dit opzicht een groote beteekenis hebben. Wel bestaat er over het aandeel, dat aan beide factoren hierin moet worden toegekend, nog veel verschil van meening; maar, zooals ik reeds vroeger uiteenzette, niet hierom gaat de voornaamste strijd, maar om de vraag, of de

¹⁾ Hoke Zeitschr. f. Heilkunde. 1904. Bd. 25, S. 197.

²⁾ v. Dungern. Münch. med. Wochenschr., n^o 20 en 28, S. 677, S. 962; 1900.

³⁾ Wilde. Arch. f. Hyg. S. 38, 1; 1902.

⁴⁾ Levaditi. Ann. Past. 15, p. 894.

⁵⁾ Bail und Pettersson. Zentralbl. f. Bakteriologie, 33, S. 756; 1903.

z.g. antistoffen de producten zijn van de phagocyten of niet en verder of de phagocyten van het immune dier beter in staat zijn hun werk te verrichten dan die van het niet-immune.

Ik zal hier nu eerst de gegevens bespreken betreffende den al- of niet-phagocytairen oorsprong der antistoffen en vervolgens de vraag behandelen of de phagocyten van een immuun dier betere phagocytair eigenschappen hebben dan die van een niet-immuun.

Spuit men in de buikholte of in de bloedbaan van een dier erythrocyten van een andere soort in, dan worden deze door de toesnellende macrophagen opgenomen en gedigereerd.¹⁾ Herhaalt men de insputingen dan geschiedt dit in veel sneller tempo. Onderzoekt men het bloedserum van een meermalen met vreemde erythrocyten ingespoten dier, dan blijkt dit een haemolytisch vermogen te hebben gekregen, dat het serum van een niet behandeld dier, of in het geheel niet, of in zeer geringe mate bezit.

Bordet heeft aangetoond, dat hierbij twee factoren in het spel zijn, t.w. een thermolabiele²⁾ „alexine”, dat in het serum van geïmmuniseerde dieren in ongeveer dezelfde hoeveelheid gevonden wordt als in dat der niet behandelde dieren, en een thermostabiele²⁾ „substance sensibilisatrice”, die in het serum van een

¹⁾ De microphagen blijven hierbij wel is waar ook niet geheel werkeloos, in zooverre zij de erythrocyten kunnen aanvreten, (Buxton and Torrey. Studies in absorption, Journal of medical research, Vol XV, 1906, p. 5) maar van een eigenlijke phagocytose is hier toch geen sprake. Roes (Academisch proefschrift, 1911, blz. 45) zegt wel een echte phagocytose, d.w.z. een opname van kippen-erythrocyten door de polynucleaire cellen in de buikholte van de cavia te hebben waargenomen. Dit is echter de eenige maal, dat ik iets dergelijks in de literatuur vermeld vond.

²⁾ De woorden thermostabiel en thermolabiel zijn bedoeld t. o. van een verhitting op 56° C. gedurende 30 minuten.

nog nooit ingespoten dier hoogstens in zeer geringe hoeveelheid voorkomt, maar die in het serum van reeds meermalen geïnjicieerde dieren in groote hoeveelheid aanwezig kan zijn. Het serum van het geïmmuniseerde dier heeft blijkbaar zijn veel sterkere haemolytische werking aan deze laatste stof te danken.

Ehrlich en Morgenroth hebben uitgemaakt, dat het mechanisme van de serumhaemolyse zoodanig is, dat de substance sensibilisatrice zich op de roode bloedlichaampjes fixeert en de alexine zich alleen door middel van deze substantie met de erythrocyten kan verbinden.

Gemakshalve zij even er aan herinnerd, dat de uitdrukkingen substance sensibilisatrice (Bordet), amboceptor (Ehrlich) en fixateur (Metchnikoff) gelijkwaardige beteekenis hebben en evenzoo de woorden alexine (Buchner, Bordet) complement (Ehrlich) en cytase (Metchnikoff.¹⁾

De vraag of de cytase beslist fixateur noodig heeft, om de haemolytische werking uit te oefenen, is moeilijk te beantwoorden. Zeker is het, dat om dit proces met noemenswaardige snelheid te doen plaats hebben, beide stoffen aanwezig moeten zijn. De haemolytische en in het algemeen iedere cytolytische fixateur heeft de eigenschap, dat hij specifiek is, d.w.z. hij ontvouwt alleen zijn werking tegenover die cellen, die tot zijn ontstaan hebben geleid.

Metchnikoff heeft nu de theorie opgesteld, dat het ferment dat in het protoplasma der macrophagen de intracellulaire digestie der vreemde erythrocyten veroorzaakt, datgene is, wat wij als het complexe haemolysine der normale en der immuunsera hebben leeren kennen.

¹⁾ Metchnikoff verklaart uitdrukkelijk (l. c. II, S. 678), dat hij met dit woord niet heeft willen zeggen enzym van cellulairen oorsprong, maar cellen oplossend enzym. Hij heeft daarmee dus niets over de herkomst willen prejudiceeren.

Wanneer men vreemde erythrocyten binnen brengt in het lichaam van een al of niet reeds vroeger met die cellen behandeld dier, dan heeft er, afgezien van enkele gevallen, waarin men meer met een „reageerbuisjesproef in vivo” te doen heeft (b.v. bij de plotselinge inspuiting van erythrocyten in de buikholte), geen haemolyse in de lichaamsvochten of in het bloedplasma plaats, maar de macrophagen nemen de vreemde roode bloedlichaampjes op en digereeren ze intracellulair. Om deze reden wil Metchnikoff, m. i. zeer terecht, een vrij circuleeren van het complexe haemolysine in de vochten van het levende dier niet aannemen.

Waar nu in het lichaam van een tegen die vreemde erythrocyten geïmmuniseerd dier die opname door de macrophagen veel sneller geschiedt dan bij een niet voorbehandeld dier en men in het lichaam van een dergelijk nooit te voren met die erythrocyten ingespoten dier diezelfde snelle phagocytose van ingespoten erythrocyten kan doen plaats hebben door of het dier fixateur uit het serum van een immuun dier te injecteeren, of ook in plaats van die erythrocyten zonder meer deze cellen te gebruiken, nadat ze zich in vitro met fixateur hebben beladen, ligt het voor de hand de vluggere opname van deze erythrocyten in het lichaam van het geïmmuniseerde dier hieraan toe te schrijven, dat de fixateur vrij in het bloedplasma aanwezig is en aldus zijn „opsonische” functie tegenover deze cellen kan uitoefenen.

Wanneer men dus met Metchnikoff aanneemt, dat het complexe haemolysine niet vrij in het bloedplasma circuleert, moet men zich dit wel zoo denken, dat de cytase, het complement, niet buiten de lichaamscellen wordt aangetroffen. Alleen dan komt ook de cytase vrij wanneer het plasma in serum verandert,

d. w. z. bij het proces der stolling. Iets dergelijks gebeurt ook wanneer men een hoeveelheid erythrocyten in de onvoorbereide buikholte van de cavia inspuit. Of dit vrij komen van de cytase daarbij afhankelijk is van een laesie van de phagocyten, van wat Metchnikoff noemt een „phagolyse”, staat m. i. nog niet vast.

Trouwens, noch voor den haemolytischen fixateur, noch voor de cytase is het bewezen, dat zij hun ontstaan danken aan de phagocyten, in casu de macrophagen. Wel is dit in hooge mate waarschijnlijk. Immers, ten eerste bestaat er, wanneer men een dier herhaaldelijk met vreemde erythrocyten inspuit, een parallelisme tusschen de snellere phagocytose en intracellulaire digestie daarvan en het haemolytisch vermogen van het uit het bloed van dat dier gewonnen serum; ten tweede zou men, indien het ferment, dat in de macrophagen de erythrocyten digereert en het complexe haemolysine van het serum niet hetzelfde waren, moeten aannemen, dat het organisme door de immunisatie tweecërlei nieuwe eigenschappen verwerft, waarvan het eene, de serumhaemolyse, in het lichaam van het levende dier practisch nooit tot uiting zou kunnen komen; ten derde is het bekend, dat de fixateur zijn werkzaamheid in het plasma alleen openbaart door het bevorderen van de phagocytose en dus zijn beteekenis alleen ontleent aan zijn betrekking tot dit verschijnsel. Voor de hand liggend is dus zeker het vermoeden, dat beiderlei erythrocyten destrueerende fermenten identiek zijn. Maar bewezen is deze hypothese allerminst.

Wanneer men n.l. tracht de haemolytische substanties door extractie uit de macrophagen te winnen, stuit men op allerlei moeilijkheden. Wel is waar kan men

nu en dan daarin slagen, en gelukt het b.v. uit versche macrophagen-organen, zooals de milt, een haemolytisch werkende stof uit te trekken; te bewijzen, dat men daarbij werkelijk te doen heeft met het complexe haemolysine der sera is echter niet gemakkelijk. Bovendien is men niet in staat geweest aan te toonen, dat in de macrophagen van een geïmmuniseerd dier meer van die stof aanwezig is; terwijl toch in dit opzicht het bloedserum zulke kolossale verschillen te zien geeft.

De extractie-methode is daarvoor dan ook een zeer slecht middel. Niet alleen, dat men daarbij behalve de haemolytische agentia ook kans heeft remmende stoffen uit te trekken — en iedereen weet hoe velerlei de remmende invloeden op de serumreacties zijn, — maar ook kan men hoogstens verwachten die substanties in handen te krijgen, die in het protoplasma reeds aanwezig zijn, terwijl men geen aanwijzingen krijgt omtrent het secernerend vermogen van de cellen t. o. van de bij de intracellulaire digestie werkzame fermenten.

Spuut men bij een proefdier bacteriën in, hetzij intraperitoneaal, hetzij subcutaan of intraveneus, dan ziet men, dat deze, zoo het dier weerstandsvermogen tegenover de betrokken infectie bezit, door de phagocyten, in de eerste plaats door de microphagen worden opgevreten.

Boven wees ik er reeds op, dat een extracellulaire vernietiging van bacteriën slechts in uitzonderingsgevallen, die sterk afwijken van de natuurlijke infectie, kan voorkomen.

Geeft men een geïmmuniseerd dier een injectie van bacteriën, dan geschiedt de phagocytose sneller en in grooter omvang. Dikwijls is het mogelijk dit verschijnsel door de tengevolge van de immunisatie ontstane nieuwe

eigenschappen van het bloedplasma, de aanwezigheid daarin van een „bacteriotropen”, „opsonischen” fixateur te verklaren; maar in het eerste hoofdstuk wees ik er reeds op, dat dit zeker niet in alle gevallen zoo is. En zelfs daar waar een dergelijke fixateur de oorzaak van de snellere phagocytose kan zijn, is het zeer wel mogelijk, dat ook de phagocyten nieuwe eigenschappen hebben verworven en er als het ware een „perfectionnement des phagocytes à digérer leur proie” is tot stand gekomen.

Stelt men zich op het standpunt, dat de nieuw opgetreden plasmastoffen van phagocytairen oorsprong zijn, dan komt men ook tot het besluit, dat de phagocyten door de voorafgaande infecties wat hebben geleerd. Immers, wanneer lang na een immunisatieproces de antistoffen in het bloedserum zeer zijn verminderd, dan wordt hun vorming door een hernieuwde infectie in veel sterker mate en in veel sneller tempo opgewekt dan na de eerste maal het geval was.

Metchnikoff meent nu, dat het digestieve ferment, dat in het protoplasma der microphagen de bacteriën vernietigt, hetzelfde is als het bacteriolysine, dat in vele sera wordt gevonden. Evenals de boven besproken haemolysinen hebben ook bacteriolysinen een complexe natuur, in dier voege, dat zij bestaan uit een relatief thermolabiele cytase (complement) en een relatief thermostabielen fixateur (amboceptor), die in analogie met den haemolytischen fixateur zich op de bacteriën vasthecht en aldus de cytase in staat stelt haar werk uit te oefenen en eveneens specifiek is. De hoeveelheid cytase wordt door een immunisatieproces niet vergroot, die van den fixateur dikwijls in buitengewoon sterke mate.

Op overeenkomstige gronden als voor den haemoly-

tischen fixateur neemt Metchnikoff aan; dat de bacteriotrope fixateur vrij in het plasma van het levende dier circuleert. Evenals voor de haemolytische cytase meent hij dus ook, dat de bacteriolytische cytase niet in de lichaamsvochten van het levende dier buiten het protoplasma van de phagocyten aanwezig is (afgezien dan van de enkele reeds meermalen genoemde uitzonderingsgevallen), omdat de werking van het complexe bacteriolysine daar niet wordt waargenomen.

Nu kunnen de meeste Duitsche onderzoekers er nog niet toe komen toe te geven, dat het complement, de cytase, niet vrij in het levende plasma voorkomt. Niet dat zij nog langer zouden kunnen ontkennen, dat als regel geen extracellulaire bacteriolyse plaats heeft, maar Wassermann heeft de meening uitgesproken, dat dit niet daardoor komt, dat er geen vrij complement in het plasma aanwezig is, maar doordat er relatief te weinig is t. o. van de groote hoeveelheid fixateur.

Neisser en Weichsberg hebben er n.l. reeds sinds lang op gewezen, dat in vitro bij een betrekkelijk te groot quantum amboceptor t. o. van het complement, de bacteriolyse niet tot stand komt. Iets dergelijks zou dus ook in vivo kunnen plaats hebben. Nu is er aan het serum van een dier, waar bij voldoende aanwezigheid van amboceptor (fixateur) aldus een extraphagocytair bacteriolyse uitblijft, van een dergelijke complementarmoede niet veel te bemerken¹⁾ en ik kan dus niet veel voor deze opvatting gevoelen. Bovendien is het toch wel zoo eenvoudig, wanneer men van de werking van een stof, die men alleen door die werking kent, niets ziet, aan te nemen, dat die stof er dan ook niet is, dan een combinatie van mogelijkheden uit te denken, waarbij zij wel aan-

¹⁾ Hoke l. c.

wezig zou moeten zijn, maar niet haar functie zou kunnen uitoefenen.

Is nu het werkzame bestanddeel van onze bacteriolytische sera identiek met het ferment, dat in het protoplasma der phagocyten de bacteriën digereert?

Deze vraag is al evenmin opgelost als bij de overeenkomstige haemolysinen. In beide gevallen gelden dezelfde waarschijnlijkheidsargumenten; zekerheid bestaat er echter niet.

Wat betreft de serumbacteriolysinen, zijn nu in de laatste jaren talrijke onderzoekingen gedaan om uit te maken of deze al dan niet overeenstemmen met de bacteriolysinen van leucocytairen oorsprong.

Van de taak om hiervan een overzicht te geven ben ik ontheven, nu nog maar kort geleden een uitvoerig artikel van de hand van Levaditi¹⁾ over dit onderwerp is verschenen.

Levaditi resumeert den stand van het vraagstuk ongeveer als volgt:

Gebleken is, dat de microbiciede leucocytenstoffen een complexe aard hebben, overeenkomende met die der serumbacteriolysinen, in dier voege, dat zij bestaan uit een relatief thermolabiele stof, analoog aan de cytase, en een relatief thermostabiele stof, analoog aan den fixateur.

In verschillende gevallen is het reeds gelukt normale geïnactiveerde sera door de thermolabiele leucocytenstof, en omgekeerd, door verwarming inactief gemaakte leucocytenextracten door versch serum te reactiveren. Echter gelukt het maar in zeer weinige gevallen een geïnactiveerd specifiek immuunserum met versche leucocytenextracten te activeeren.

¹⁾ Levaditi. Les bactériolysines leucocytaires dans leurs rapports avec l'alexine. Bull. Past. T. XII, 1914, p. 481, etc.

Dit laatste feit is op het oogenblik nog het belangrijkste, hoewel niet beslissende argument tegen den leucocytairen oorsprong der bacteriolytische cytase. Het is zeer wel mogelijk, dat de aanwezigheid van remmende bestanddeelen in de extracten hiervan de oorzaak is. Daarentegen kunnen verschillen in gedrag tegenover sommige physische en chemische agentia niet als ernstig bezwaar tegen het aannemen der identiteit gelden, omdat deze volkomen door het verschillende milieu verklaard kunnen worden.

Evenzoo is dit het geval wat betreft het ontbreken van een parallelisme tusschen de bactericide werking der sera en die der leucocytenextracten. Waar deze werking wel in de leucocytenstoffen, maar niet in de sera wordt aangetroffen, kan het zijn, doordat zij in dit laatste milieu remmende invloeden ondervinden. Inderdaad is dit reeds voor sommige gevallen vastgesteld. Waar aan den anderen kant het serum bactericide werkt, terwijl men er niet in geslaagd is bactericide leucocytenextracten te maken, ligt het meer voor de hand, dit aan de methode dan aan de leucocyten te wijten. In enkele gevallen, waarin men aanvankelijk niet slaagde, gelukte dit later door een verandering der techniek wel.

Daarenboven, het extraheeren van leucocyten, ik heb het reeds naar aanleiding van de pogingen om haemolysinen uit macrophagen-organen te extraheeren gezegd, is wel een zeer slecht middel om zich een oordeel te kunnen vormen omtrent de secretieproducten van deze cellen.

Voor het maken van de hier bedoelde leucocytenextracten heeft men in overeenstemming met de voorstelling van Metchnikoff gebruik gemaakt van in hoofdzaak uit microphagen bestaande leucocyten-suspensies.

Van pogingen om uit te maken of de extracten uit microphagen van geïmmuniseerde dieren meer bactericid vermogen zouden hebben, dan de „normale” extracten, heb ik in de litteratuur niets kunnen vinden. Dat dergelijke onderzoekingen wel worden gedaan met betrekking tot de immuunhaemolysinen en de macrophagen en dat zij een negatief resultaat opleverden, heb ik reeds vroeger vermeld.

Was de extractie van de leucocyten een goede methode om in deze vragen licht te verschaffen, dan zou men stellig getracht hebben op deze wijze steun te vinden voor de opvatting, dat de microphagen de voornaamste producenten van den specifiek bacteriotropen fixateur der inmuunsera zijn.

Inderdaad meent Metchnikoff, dat dit het geval is. Hij stelt zich voor, dat de phagocyten, die zich bij een infectie met microben beladen, in hoofdzaak microphagen, naar de milt, het beenmerg, de lymfbklieren en de andere lymphoïede organen trekken en aldaar den specifiek fixateur gaan vormen.¹⁾ Zeker mag als bewezen worden aangenomen, dat de bacteriotrope fixateur in die organen ontstaat. Maar of de microphagen daarvoor nu in de eerste plaats verantwoordelijk gesteld moeten worden, is een vraag, waarover ik later nog uitvoerig zal hebben te spreken.

Kan ik dus geen onderzoekingen noemen over de vraag in hoeverre de extracten van de microphagen van geïmmuniseerde dieren een sterkere bactericide werking hebben dan die van niet immune, wel kan ik enkele experimenten vermelden, gedaan om uit te maken of de levende polynucleaire leucocyten van het actief geïmmuniseerde dier in dit opzicht meer praesteeren dan die van niet voorbehandelde contrôle-dieren.

¹⁾ Metchnikoff l. c. (II), S. 710.

Voor zoover mij bekend, zijn dergelijke proefnemingen het eerst gepubliceerd door Pettersson.

Nadat deze onderzoeker had aangetoond, dat een intraperitoneale of intraveneuze inspuiting van levende exsudaatleucocyten het weerstandsvermogen van een proefdier tegenover velerlei infecties sterk verhoogde, heeft hij nagegaan of dit in hooger mate het geval was, wanneer hij leucocyten van een geïmmuniseerd dan wanneer hij die van een niet geïmmuniseerd dier gebruikte.¹⁾

Hij werkte daartoe met suspensies van exsudaatcellen, in hoofdzaak microphagen, die hij verkreeg door een cavia intraperitoneaal te injecteren met aleuronaat en het aldus verwekte exsudaat te centrifugeeren en te wasschen met physiologische zoutoplossing. Dergelijke leucocytensuspensies nam hij van normale en van actief tegen *Vibrio Metchnikoff* geïmmuniseerde cavia's en spoot gelijke hoeveelheden van beide bij normale cavia's in de buikholte. De dieren, die immuunleucocyten hadden ontvangen, weerstonden nu een intraperitoneale injectie van een dosis vibrionen, die doodelijk was voor de met normale leucocyten ingespoten contrôle dieren.

Merkwaardig genoeg trekt Pettersson zelf daaruit echter niet de conclusie, dat de immuunleucocyten een sterker bactericide werking hebben dan de normale en wel, omdat ook de doode contrôle-dieren geen of bijna geen bacteriën meer in de buikholte hadden. De dood zou dus niet veroorzaakt zijn door de infectie met levende microörganismen, doch als een vergiftigingsverschijnsel tengevolge van de bacterio-proteinen zijn op te vatten. In ieder geval zou dan toch aan de immuunleucocyten een grootere beschermende

¹⁾ Pettersson. Die Rolle der Leucocyten im Kampfe des tierischen Organismus gegen die Infection. Centr. bl. f. Bakt. Org. Bd. 42, S. 56, 1906.

werking tegenover de bacteriënvergiften moeten worden toegekend dan aan de normale; d.w.z. in zooverre het geringe aantal experimenten een besluit zou toelaten.

Later heeft Pettersson ¹⁾ ook door intraveneuse injectie van leucocyten en anthraxbacillen bij konijnen aangetoond, dat de immuunleucocyten, zelfs gewassen en dus beroofd van alle serumstoffen, sterker antibacterieele eigenschappen hebben dan de normale cellen.

Salimbéni ²⁾ heeft in het Institut Pasteur te Parijs de eerstgenoemde experimenten van Pettersson op meer uitgebreide schaal en op meer nauwkeurige wijze herhaald.

Salimbéni gebruikte een *Vibrio Metchnikoff* van hooge virulentie: $\frac{1}{2000}$ agar cultuur van 24 uren oud was in staat een cavia in 12—14 uur te doden.

Hij immuniseerde cavia's tegen deze bacteriën, door eerst met doode, later met levende vibrionen in stijgende dosis intraperitoneaal te injecteeren, zoodat de dieren ten slotte $\frac{1}{5}$ agarcultuur zonder bezwaar verdroegen. Het serum van deze dieren had een sterke praeventieve werking.

Zijn leucocyten verkreeg hij door 5 ccm. van een suspensie van gluten-caseïne (5 %) in de buikholte van cavia's in te spuiten, het na 15 uur ontstane exsudaat te centrifugeeren en het centrifugaat met physiologische zoutoplossing te wassen.

Van de cavia's, waarbij de exsudaten werden verwekt, werd den dag van de intraperitoneale gluten-caseïne inspuiting 2 ccm. bloed door cardiale punctie verkregen en het daaruit afgescheiden serum tot den volgenden dag bewaard.

De hoeveelheden van de bij de experimenten gebruikte leucocyten werden door weging bepaald.

Salimbéni kon nu aantoonen, dat een exsudaat afkomstig van een maar zwak geïmmuniseerde cavia bij inspuiting in de buikholte van een normale cavia tegen een tienmaal dodelijke dosis kon beschermen; terwijl noch het exsudaat

¹⁾ Pettersson. Centralbl. f. Bakt. Org. Bd. 45, S. 160, 1907.

²⁾ Salimbéni. Les modifications des globules blancs dans l'immunité acquise. Ann. Past. T. XXIII, 1909.

van een niet geïmmuniseerd dier, noch het serum der immune dieren alleen daartoe in staat waren. Ook het serum van de geïmmuniseerde dieren, waaraan „normale” leucocyten waren toegevoegd, kon die infectie niet stuiten.

Indien men het exsudaat uit de buikholte der immune cavia's kon gelijk stellen met immuunserum, waaraan men „immune” leucocyten had toegevoegd, zou men uit deze experimenten inderdaad kunnen besluiten, dat de „immuun”-leucocyten een grotere praeventieve werking hadden dan de normale.

Verder trachte Salimbéni te bewijzen, dat de gewassen exsudaatleucocyten van zeer sterk geïmmuniseerde cavia's, waarvan het serum een zoo hooge praeventieve werking had, dat in enkele gevallen $\frac{1}{4000}$ cm. daarvan nog in staat was een nieuwe cavia tegen een tienmaal doodelijke dosis van het virus te beschermen, dit vermogen in nog veel sterker mate bezaten, wanneer men alle verhoudingen in acht nam.

Afgezien nu daarvan, dat Salimbéni m. i. met zijn experimenten juist het tegendeel van deze stelling bewijst, heeft hij niet onderzocht in hoeverre de praeventieve werking van de gewassen leucocyten der gehypervaccineerde dieren groter is dan dat van de normale cellen.

Ook wanneer men aanneemt, dat door de proeven van Pettersson en Salimbéni bewezen is, dat de „immuun”-leucocyten een sterker anti-infectieus vermogen hebben dan de normale, dan mag men het in deze experimenten door de leucocyten van het geïmmuniseerde dier op een nieuw dier overgedragen vermeerderde weerstandsvermogen tegenover een bacterieele infectie, nog niet op een lijn stellen met de immuniteit, zooals door de inspuiting van een immuunserum kan worden teweeggebracht. Immers het karakteristieke van deze laatste vorm is wel haar specificiteit

en bovengenoemde onderzoekers hebben niet aangetoond, dat in hun gevallen de passief door de inspuiting van „immuun”-leucocyten veroorzaakte onvatbaarheid ook speciek was.

Voor mij is echter ook de stelling, dat de microphagen van het actief geïmmuniseerde dier sterkere antibacterieele eigenschappen hebben dan die van het niet geïmmuniseerde, door de onderzoekingen van Pettersson en Salimbéni nog niet bewezen.

Ik besloot daarom een poging te wagen langs een anderen weg deze vraag te beantwoorden en zoo mogelijk tevens uit te maken of de veronderstelde nieuw verworven eigenschappen der microphagen al of niet specifiek zouden zijn.

Hoewel ik daarin in het geheel niet ben geslaagd, zal ik mijn daarop betrekking hebbende onderzoekingen in het volgend hoofdstuk toch bespreken, gedachtig aan het oud-Hollandsche spreekwoord: „Een schip op het strand, een baken in zee!”

IV.

Wanneer men zich met Metchnikoff voorstelt, dat de microphagen, die de bacteriën, welke het organisme belaagden, hebben opgevreten, zich begeven naar de z.g. phagocyttaire organen en aldaar hun antibacteriële eigenschappen gaan ontwikkelen, in dier voege, dat de microphagen van een dier, dat reeds eenmaal een infectie heeft doorstaan, beter in staat zijn de betrokken bacterie te vernietigen dan die van een normaal dier, dan ligt het volkomen in de lijn, te veronderstellen, dat die microphagen, welke bij een vroegere infectie aan de phagocytose der pathogene microörganismen hebben deelgenomen, later meer „getraind” zijn in dit opzicht dan die welke daarbij werkeloos waren gebleven.

Nemen wij een oogenblik dezen gedachtengang aan, dan wordt de vraag van belang, of het nu ook dezelfde microphagen zijn, die bij een herhaalde infectie met hetzelfde microörganisme het eerst op de bedreigde punten verschijnen.

Toen ik nog aan de juistheid van bovengenoemde opvatting geloofde, was het voor mij dus van belang, na te gaan of dit inderdaad het geval was. Daartoe zou het noodig zijn, de polynucleaire leucocyten, die bij een tweede infectie op een bepaalde plaats in het lichaam van het proefdier optreden, te kunnen herkennen als degene, die ook de eerste maal werkzaam waren.

Hoewel ik de kans op slagen niet groot vond, wilde ik probeeren of het mogelijk zou zijn, de microphagen, die bij een eerste injectie met bacteriën optreden, van een merkteeken te voorzien. Ik wilde

daartoe gebruik maken van de resultaten van eenige experimenten, die ik in de oudere litteratuur vermeld vond.

In den tijd, toen nog veel gestreden werd over de vraag, of de z.g. etterlichaampjes ter plaatse ontstonden, dan wel uit bloed en lympe geëmigreerde cellen waren, publiceerden Hoffmann en von Recklinghausen ¹⁾ een experiment, dat waard is in herinnering te blijven.

Zij spoten bij een kikvorsch in den lymphzak van de dij, een suspensie van cinnaberkorreltjes in en verwekten daarop met een bijtend middel een hoornvliesontsteking. Op de ontstoken plaats ontstond nu een roodgekleurde kring van met cinnaber beladen etterlichaampjes. Daaruit bleek, dat de leucocyten, die reeds cinnaberkorrels hadden opgenomen, in staat waren opnieuw bij een ontsteking werkzaam te zijn.

Dezelfde schrijvers en ook Cohnheim en Ponfick deden later talrijke onderzoekingen over het lot van in het dierlijk lichaam ingespoten kleurstofkorrels. Allen constateerden zij, dat deze zeer lang in het lichaam achterbleven; vooral milt en beenmerg bevatten steeds groote hoeveelheden ervan. De kleurstof lag daarbij steeds intracellulair, nooit extracellulair. Het waren voornamelijk cellen, behoorende tot de groep, die later door Metchnikoff met den naam van macrophagen is bestempeld, die kleurstof in zich hadden opgenomen; ook echter cellen, die, voor zoover uit de beschrijving is op te maken, polynucleairen waren, bevatten kleurstofkorrels. Sommige cellen bevatten veel cinnaber, andere weinig, weer andere in 't geheel niets.

¹⁾ Hoffmann und von Recklinghausen. Centralbl. f. d. mediz. Wissensch. 1867, S. 481.

Ponfick ¹⁾ constateerde verder, dat cellen, die tevoren cinnaber hadden opgenomen, later daardoor niet belemmerd waren in hun vermogen om ultramarijn-partikeltjes in zich op te nemen; ook 6 weken na een voorafgaande cinnaberinjectie, namen de met deze kleurstof beladen phagocyten evengoed ultramarijn op als de nog ledige cellen.

Ik wilde nu, gebruik makende van deze gegevens, de bij een bacterieele infectie optredende microphagen tegelijkertijd met de microben kleurstofpartikeltjes laten opvreten, en dan na verloop van eenigen tijd onderzoeken of bij een herhaalde infectie met hetzelfde microörganisme weer de nu met kleurstof beladene polynucleaire leucocyten op den voorgrond zouden komen.

Ik probeerde achtereenvolgens met karmijnkorrels, houtskoolpartikels en schimmelsporen, ²⁾ maar reeds dadelijk stuitten mijn pogingen af op twee bezwaren: of de gefagocyteerde korrels waren moeilijk in de phagocyt te herkennen, of, wat veel hinderlijker was, de opname van deze partikels nam veel meer tijd in beslag dan die van de hen vergezellende bacteriën. Ik heb daarom spoedig mijn proefnemingen in deze richting gestaakt.

Vervolgens heb ik getracht door proeven in vitro de bactericide werking van levende leucocyten te bestudeeren, om te onderzoeken in hoeverre leucocyten van een actief geïmmuniseerd dier hierin meer bedreven zouden zijn, dan die van een niet geïmmuniseerd dier.

¹⁾ Ponfick. Studien ueber die Schicksale körniger Farbstoffe im Organismus. Virchows Archiv. Bd. 42, 1869, S. 1.

²⁾ Ik maakte gebruik van de door Stuber voor de bepaling van den z.g. phagocytaire index in den handel gebrachte sporen. (Stuber. Münch. med. Wochenschr. N^o. 29, 1913).

De litteratuur doorziende, om de positieve feiten te leeren kennen, waarop de stelling berust, dat de levende microphagen gephagocyteerde bacteriën ook werkelijk kunnen doden, bleek mij deze leer niet zoo goed gegrondvest te zijn, als ik aanvankelijk wel vermoedde. Het krachtigste argument daarvoor is m. i. wel de directe waarneming van involutiever Verschijnselen aan bacteriën, die door microphagen zijn opgenomen, zoowel in *vivo* als in *vitro*, en ik geloof dan ook inderdaad, dat er vele microben zijn, die de digestieve werking der polynucleaire leucocyten niet kunnen weerstaan.

Toch moet men niet vergeten, dat veranderingen van een bacterie in kleuraffiniteit, in vorm of in volume, nog niet altijd gepaard gaan met dood of verlies van het deelingsvermogen. Het is zeer wel mogelijk, dat een microörganisme, dat aldus duidelijk waarneembare veranderingen vertoont, aanstonds na den dood van den microphaag weer opleven en zich zelfs vermenigvuldigen kan.

Een zekere waarneming van door polynucleaire leucocyten uitgeoefende bacteriëcidie in *vitro*, zou daarentegen allen twijfel wegnemen; een negatief experiment in *vitro* kan natuurlijk nooit iets bewijzen.

Nu hebben verschillende onderzoekers gemeend, een leucocyten-bacteriëcidie met zekerheid te kunnen vaststellen; Hectoën,¹⁾ Ruediger,²⁾ Rosenow,³⁾ Toyosumi⁴⁾ en Weil⁵⁾ hebben positieve resultaten daaromtrent gepubliceerd.

¹⁾ Hectoën. The rôle of Phagocytosis in the anthracidal action of dog blood. *Journal of infectious diseases* V III, 1906; p. 102.

²⁾ Ruediger. Further Studies on streptococcus infections. *Journal of infectious diseases*. V III, 1906, p. 156.

³⁾ Rosenow. The rôle of phagocytosis in the pneumococcal action of pneumonic blood. *Journal of infectious diseases*. V. III, 1906, p. 683.

⁴⁾ Toyosumi. *Arch. f. Hyg.* 1909. Bd XXI, S. 287.

⁵⁾ Weil u. Toyosumi. *Arch. f. Hyg.* 1909. Bd. XXI, S. 263.

Maar de overgrootte meerderheid van hun proefnemingen wijst slechts een vermindering van het aantal koloniën aan, dat een suspensie van bacteriën, die gedurende eenigen tijd aan de werking van levende leucocyten is blootgesteld geweest, met de plaatmethode geeft.

Iets dergelijks kan echter zeer wel tot stand komen: ten eerste door phagocytose, zonder bacteriëcidie, waarbij alle in één leucocyt liggende bacteriën slechts één kolonie kunnen geven; ten tweede door agglutinatie, samenklontering van phagocyten (een verschijnsel, dat door verschillende onderzoekers is opgemerkt), ¹⁾ waarbij alle in deze opeengehoopte leucocyten liggende bacteriën tezamen slechts één enkele kolonie geven. Ja, het is vooral door dezen laatsten factor zelfs mogelijk, dat het ééne oogje van de leucocyten-bacteriën-suspensie, waarmee men een plaatcultuur maakt, geen enkele levende bacterie bevat, terwijl er in het geheele volume toch nog velen zijn. En in deze beschouwingen heb ik de agglutinatie van bacteriën als zoodanig nog geheel buiten rekening gelaten!

Daarenboven heeft men, wanneer gedefibrineerd bloed of oudere exsudaten (van 24 uur oud b.v.) worden gebruikt, behalve de polynucleaire cellen, de microphagen, ook nog verscheidene mononucleaire cellen, die tot de groep der macrophagen behooren, in de suspensie. En ik heb het hier uitsluitend over de vraag, of de microphagen de bacteriën wel kunnen doden. Kortom, het moge waarschijnlijk zijn, dat deze cellen in leven bacteriëcid kunnen werken, bewezen is het m. i. nog niet. Dat extracten van microphagen bacteriëcid kunnen werken, zegt nog niet, dat de levende cellen deze eigenschap ook hebben.

¹⁾ Hectoën (l. c.) zegt op blz. 103 onderaan: „In the presence of normal serum and bacilli the leucocytes engaged in phagocytosis manifest a distinct tendency to form groups.

Ik besloot nu mijn onderzoek zoo in te richten, dat ik niet zou bepalen in hoeverre het aantal uit een leucocyten-bacteriën-suspensie te kweeken koloniën in een bepaalden tijd zou verminderen; maar dat ik zou nagaan hoeveel bacteriën nog juist door een bepaalde hoeveelheid leucocyten konden worden gedood. Ik koos daartoe een techniek, die overeenkomt met de methode, welke door Wright¹⁾ voor de bepaling der serum-bacteriëcidie is aangegeven.

Om een bijna geheel uit microphagen bestaande leucocyten-suspensie te krijgen, gebruikte ik acute exsudaten, die ik verkreeg, door bij een cavia steriele gluten-caseïne suspensies in te spuiten.

Het was nu de vraag of ik goed zou doen aan de exsudaten stollingsremmende middelen toe te voegen. De meening, dat de leucocyten bij de stolling beschadigd worden is n.l. algemeen verbreid en ik geloof zeker, dat zij juist is voor zooverre deze cellen in het fibrinenet worden verstrikt.

In den beginne gebruikte ik daarom een dergelijk middel en wel nam ik daarvoor een oplossing van citras natricus. Nu is citras natricus geenszins een indifferente stof voor de leucocyten. Hamburger²⁾ geeft op, dat een 0.6 % citraat oplossing gedurende langen tijd iedere spoor van stolling in een gelijk volume paardenbloed kan tegenhouden; terwijl van een beschadigenden invloed tegenover de leucocyten niets te bemerken is. Dit is eerst bij concentraties van 1 % en hooger het geval; in dier voege, dat ook na verwijdering van het citraat het phagocytair vermogen dier cellen vermindert blijkt te zijn. Wright, die voor zijn bepalingen

¹⁾ A. E. Wright (II). Technique of the test and capillary glass tube, 1912, p. 108.

²⁾ Hamburger. Physikalisch chemische Untersuchungen ueber Phagocyten. 1912.

van den opsonischen index een zeer geringe hoeveelheid bloed in een 1.5 % citras natricus oplossing opvangt ¹⁾, maakt hiermede stellig een belangrijke fout.

Door berekening en experiment vond ik, dat men aan een 0.6 % citraat oplossing 0.8 % NaCl moet toevoegen om een oplossing te verkrijgen isotonisch met het bloedserum. Een dergelijke oplossing bleek in staat het menschelijk bloed gedurende langen tijd vloeibaar te houden.

Ik ving nu het exsudaat, dat zich 12 tot 14 uur na de inspuiting van een 5 % gluten caseïne oplossing in de buikholte van een cavia had gevormd (oudere exsudaten bevatten te veel macrophagen) in een citraat-oplossing van genoemde samenstelling op en verwijderde de leucocyten door centrifugeeren.

Geheel vrij van fibrinevlokjes was echter het aldus verkregen citraat-exsudaatmengsel niet; zoodat ik later van de geheele citraatoplossing afzag en het exsudaat in een 0.9 % NaCl oplossing opving. De fibrine-vlokjes kon ik gemakkelijk verwijderen door de suspensie door een grof filtertje te laten loopen, waar de polynucleaire ontstekingscellen doorheen gingen.

Nu kunnen de leucocyten door het centrifugeeren ernstig beschadigd worden. Dit komt b.v. in enkele experimenten van Hamburger (l.c.) zeer duidelijk uit.

Waar de centrifugeermethode steeds meer in zwang komt om levende cellen uit een vloeistof te isoleeren, zal ik daarom trachten een uiteenzetting te geven van de physische factoren, die hierbij in het spel zijn om aldus te komen tot een beoordeeling van de voorwaarden, waarvan de schadelijke invloed op die cellen afhankelijk is en deze zoo mogelijk te verminderen.

Wanneer de buizen van de centrifuge gevuld zijn met een

¹⁾ Wright l. c. (II), p. 140.

homogene vloeistof en de machine draait met constante snelheid, dan wordt ieder vloeistofdeeltje met een kracht $4 \pi^2 n^2 m R$ dynes naar de peripherie getrokken, als n het aantal omwentelingen per seconde is, m de massa van het vloeistofdeeltje in grammen en R de afstand van dat deeltje tot de as van de centrifuge in centimeters.

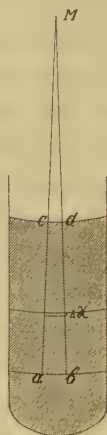
Nemen we aan, dat deze kracht zoo groot is, dat de invloed der zwaartekracht buiten rekening mag worden gelaten. Zij zal gelijk zijn voor alle deeltjes, die op een zelfden afstand van de centrifugeas gelegen zijn. De vloeistofspiegel zal dus gevormd worden door een cylindervlak, waarvan de as die van de centrifuge is.

Stelle nevenstaande teekening een horizontale doorsnee voor van een der ronddraaiende met een homogene vloeistof gevulde centrifugebuisjes en zij M de doorsnee van de as met het vlak van teekening.

Op een deel v_1 van een cylindervlak met een straal r_1 om de as beschreven, dat het vlak van teekening snijdt volgens de lijn ab , zal nu een druk in centrifugale richting worden uitgeoefend, die gelijk is aan de som van de krachten, die op de centraal waarts daarvan gelegen vloeistofdeeltjes werken. Deze laatstgenoemde deeltjes vormen tezamen een kolom, waarvan de doorsnee met het vlak van teekening gegeven wordt door de figuur $abcd$ en waarvan de hoogte loodrecht op het vlak van teekening in de richting van ab naar M niet verandert.

Stel nu $Mc = Md = r_2$.

Men beschrijve nu op een afstand x van de as een cylindervlak en op een afstand Δx van dit vlak nog een. Deze beide vlakken snijden nu van de kolom $abcd$ een schijfje af, waarvan alle deeltjes, als Δx oneindig klein genomen wordt,



op een afstand x van de as liggen, en waarvan de massa gelijk aan $\frac{v_1}{r_1} x \times \Delta x \times a$ is, als a het soortgelijk gewicht van de vloeistof voorstelt.

De som van de op dit vloeistofschijfje werkende centrifugale krachten is dus

$$\begin{aligned} & 4 \pi^2 n^2 m x = \\ & = 4 \pi^2 n^2 a \frac{v_1}{r_1} x^2 \Delta x \end{aligned}$$

De som van de op de geheele vloeistofkolom $abcd$ werkende centrifugale krachten wordt dus gegeven door de formule

$$\begin{aligned} & \int_{r_2}^{r_1} 4 \pi^2 n^2 a \frac{v_1}{r_1} x^2 dx = \\ & = 4 a \frac{v_1}{r_1} \pi^2 n^2 \left[\frac{1}{3} x^3 \right]_{r_2}^{r_1} = \\ & = 4 a \frac{v_1}{r_1} \pi^2 n^2 \left(\frac{1}{3} r_1^3 - \frac{1}{3} r_2^3 \right) \end{aligned}$$

Er heerscht dus op een afstand r_1 van de as in de vloeistof een druk (d. i. de kracht per eenheid van oppervlak) gelijk aan

$$4 \frac{a}{r_1} \pi^2 n^2 \left(\frac{1}{3} r_1^3 - \frac{1}{3} r_2^3 \right) \text{ dynes,}$$

d. w. z. deze druk is afhankelijk:

- 1e. van het soortgelijk gewicht van de vloeistof (a);
- 2e. van het aantal omwentelingen per seconde (n);
- 3e. van de afstand r_1 van het beschouwde punt van de centrifuge as;
- 4e. van de afstand r_2 van den vloeistofspiegel tot deze as.

Om nu een indruk te krijgen van de werkelijke grootte van deze kracht bij het centrifugeeren, zooals ik dit in mijn experimenten uitvoerde zal ik stellen:

$$a = 1.$$

$$n = 10 \text{ (600 omwentelingen per minuut).}$$

$$r_1 = 15 \text{ cm., deze waarde geldt voor den bodem der buis.}$$

$$r_2 = 9 \text{ cm.}$$

De druk die bij een constante omwentelingssnelheid van 600 omwentelingen per minuut op den bodem der centrifugebuis heerscht, wanneer deze ter hoogte van 6 cm. gevuld is met gedest. water, is dus gelijk aan

$$\frac{4}{15} \pi^2 \cdot 100 \cdot \left(\frac{3375}{3} - \frac{729}{3} \right) =$$

$$23520 \pi^2 \text{ dynes.}$$

$$\text{Nu is } \pi^2 = 9,8696 \text{ en } 1 \text{ dyne} = \frac{1}{g} \text{ Gram} = \frac{1}{9,81} \text{ Gram.}$$

$$\text{Dus } 23520 \pi^2 \text{ dynes} = 23520 \frac{9,87}{9,81} \text{ Gram} = 236,6 \text{ Gram.}$$

Wanneer men in plaats van gedestilleerd water een physiologische zoutoplossing neemt, wordt deze druk iets grooter.

Heeft men verder niet te doen met een homogene oplossing, maar met een suspensie van leucocyten, dan kan men zeggen, omdat de afmeting van deze cellen zeer klein is t. o. van de grootte r_1 , dat deze op den bodem van het buisje een druk ondervinden, die in grootte met de berekende overeenkomt.

Bedenkt men nu, dat 1 atmosfeer gelijk is aan een druk van 1030.5 gram en dat de dierlijke cellen, ook die van den mensch, gemakkelijk een druk van enkele athmosferen kunnen doorstaan (men denke b.v. aan den druk, die de lichaamscellen van de caisson-arbeiders te verdragen hebben), dan komt men tot het besluit dat een verhooging van den athmosferischen druk met nog geen kwart, zooals op den bodem van het centrifugebuisje plaats vindt, nooit een ernstige beschadiging van het cellichaam kan veroorzaken.

Iets anders wordt dit wanneer men met een veel grooter omwentelingssnelheid centrifugeert, b.v. met 3000 omwentelingen per minuut, dat is 50 per seconde. De berekende waarde wordt dan 25 maal grooter, d. w. z. ongeveer 6 athmosferen, en voor deze druk zou ik niet willen zeggen, dat hij onschadelijk is.

Het door middel van centrifugeeren verwijderen van corpuscula uit een suspensie berust nu hierop, dat de specifieke massa van deze lichaampjes verschilt van die van de omgevende vloeistof. Zijn ze, zooals de cellen, specifiek

zwaarder dan de vloeistof, dan is de kracht, die hen naar de peripherie trekt, grooter dan die, welke op even groote vloeistofdeeltjes werkt.

Daaruit volgt echter nog niet onmiddellijk, dat zij in die richting zullen worden voortbewogen, want de versnelling, die de zwaardere deeltjes krijgen door die grootere kracht, is juist uit hoofde van hun evenredig grootere massa weer gelijk aan die, welke de waterdeeltjes krijgen. Om duidelijk te maken, waarom de zwaardere deeltjes toch de bedoelde beweging uitvoeren, moet ik naar bijgaand schema verwijzen, waarin weer M het snijpunt van de as der centrifuge met het vlak van teekening voorstelt en op een afstand x van die as twee deeltjes van dezelfde grootte en met massa's m_1 en m_2 zijn aangegeven en wel met dien verstande dat $m_1 > m_2$. De teekening is geheel overeenkomstig de hiervóór beschrevene gedacht.



Stel m_1 is een willekeurig corpusculum, m_2 een deeltje van de suspensievloeistof.

Gaan wij na welke krachten op m_2 werken, dan vinden we: 1e. de kracht die den centraalwaarts daarvan gelegen vloeistofconus naar de peripherie slingert p_1 ; 2e. de kracht die het deeltje zelf naar de peripherie slingert p_{m_2} ; 3e. de tegendruk, welke de peripheerwaarts daarvan in het centrifugeerbuisje gelegen vloeistofzuil uitoefent p_2 .

Deze laatste kracht zal zoo groot moeten zijn, dat $p_2 = p_1 + p_{m_2}$.

Op het deeltje m_1 werken ook een naar de peripherie $= p_1$ en een tegendruk $= p_2$.

Maar de kracht p_{m_1} , die het deeltje naar buiten slingert, is, zooals boven reeds gezegd, grooter dan p_{m_2} .

Hieruit volgt, dat de som van de krachten, die het deeltje naar de peripherie toe bewegen, t. w. $p_1 + p_{m1}$, grooter is dan de kracht, die het tegenhoudt, p_2 . Het zal zich dus in centrifugale richting voortbewegen.

Deze beweging zal vlug in snelheid toenemen, zoolang de weerstand, die de cel bij haar voortbeweging van de omringende vloeistof ondervindt, kleiner is dan het verschil van deze krachten en daarna langzamer nog toenemen in verhouding met de stijging van de centrifugale kracht met de afstand van de as.

Nu blijkt, dat men een leucocytensuspenzie onder de bovengenoemde verhoudingen van hoogte der vloeistofkolom (6 cm) en afstand tot de as (9—15 cm) ongeveer 5 minuten rondraait, alle leucocyten op den bodem van het buisje gekomen zijn. Deze tijd is maar een zeer grove benadering, doch voldoende de waarheid nabij, om een inzicht in de grootte-orde van de snelheid van voortbeweging dezer cellen in de vloeistof te krijgen.

Nemen we een oogenblik aan, dat de snelheid van de elementen, die van de vloeistofspiegel af naar den 6 cm. daaronder gelegen bodem gekomen zijn, eenparig was, dan zouden deze cellen zich met een snelheid van 200 μ per seconde hebben voortbewogen.

Dat de hierbij in het spel komende wrijving veel schadelijken invloed op de cellen kan hebben is moeilijk aan te nemen, wanneer men bedenkt met welke veel grootere snelheid in de bloedbaan het plasma er om heen stroomt.

Maar ook nog op een andere wijze ondervinden de cellen den invloed van het centrifugeeren.

Immers, de cellen bestaan niet uit een onverbreekbaar geheel, maar zijn te beschouwen als een complex van substanties van verschillend specifiek gewicht. De specifiek zwaardere bestanddeelen zullen dus met grooter kracht naar den bodem van het centrifugeerbuisje getrokken worden, dan de specifiek lichtere en aldus van deze gescheiden kunnen worden, zoo tegenovergesteld werkende krachten in het protoplasma zich daartegen niet verzetten.

Het is deze factor, die m. i. als de meest bedenkelijke bij het centrifugeeren van levende cellen moet worden aangezien. Het is duidelijk, dat zij dan zoo gering mogelijk zal zijn,

wanneer men een gering aantal omwentelingen per minuut aan een korte duur van de bewerking paart. Meer nog dan de duur komt het er op aan de grootte van deze factor beneden een zekere grens te houden. Wanneer toch deze uiteentrekkende kracht kleiner is dan de krachten, waarover het protoplasma beschikt, om zijn bestanddeelen bij elkaar te houden, zal ook een iets langere duur van het centrifugeeren niet veel kunnen schaden, terwijl wanneer zij deze laatste in grootte overtreft, reeds na zeer korten tijd onherstelbare schade aan de cellen kan zijn toegebracht. Men kan, om een vergelijking te maken, beter gedurende langen tijd aan een touw een gewicht ophangen, dat nog juist niet in staat is den samenhang der vezels te verbreken, dan dat men slechts een oogenblik er een gewicht aan hangt, dat daartoe wel in staat is.

Ten slotte kan bij al de genoemde factoren nog de invloed van een botsing komen, zoo de beweging van de centrifuge met een schok tot stand komt of ook met een schok ophoudt. Dit is echter geheel te vermijden door de machine geleidelijk te doen aanloopen en ook weer geleidelijk te laten uitloopen

Om dus de levende cellen bij het centrifugeeren zoo weinig mogelijk te beschadigen, is het noodig hiervoor zorg te dragen; laat men verder het aantal omwentelingen niet hooger komen dan 600 per minuut en draait men niet langer dan 5 minuten, dan geloof ik niet, dat men een ernstige en duurzame laesie aan de cellen toebrengt.

Dit geldt alleen voor een centrifuge van de door mij bedoelde afmetingen, waarbij de bodem van het buisje niet meer dan 15 cM. van de as verwijderd is.

Deze meening kan niet alleen op de hierboven ontwikkelde theoretische overwegingen berusten, daar de belangrijkste factor, het uiteengetrokken worden der celbestanddeelen van verschillend specifiek gewicht niet nader te beoordeelen is. Ik heb echter duidelijk

trachten te maken. dat men eerder verwachten kan den invloed daarvan te verminderen, door iets langer te centrifugeeren met kleiner omwentelingssnelheid, dan korter met een grootere.

De proef op de som moet echter geleverd worden door het experiment en wat dit betreft heb ik den indruk gekregen, dat aldus gecentrifugeerde leucocyten niet sneller degenereren, dan deze cellen in vitro toch al doen.

Het centrifugeeren van de exsudaatleucocyten in mijn experimenten voerde ik nu op de volgende wijze uit:

Een centrifugeerbuisje werd tot een hoogte van 6 cm. gevuld met een exsudaat-citraatmengsel of wel met een exsudaat-physiologische-zoutoplossing-mengsel, waarvan eventueel te voren de fibrinevlokjes waren afgefiltreerd.

Een ander buisje werd nu met behulp van de balans tot hetzelfde gewicht met water gevuld en beide buisjes daarop tegenover elkaar in de centrifuge gezet.

Nu werd deze, door den weerstand in den gelijkstroom voor den motor langzaam te verminderen, op gang gebracht en de snelheid geleidelijk tot 500 à 600 omwentelingen per minuut opgevoerd, hetgeen in ongeveer $1\frac{1}{2}$ minuut werd bereikt. Deze omwentelingssnelheid werd gedurende $2\frac{1}{2}$ minuut gehandhaafd en daarna de stroom plotseling afgesloten, waardoor de machine weer geleidelijk uitliep (zooals in de practijk bleek, beter dan wanneer de stroom langzamerhand werd verminderd).

Vervolgens decanteerde ik de vloeistof uit het centrifugeerbuisje, voegde daarna, weer tot een hoogte van ongeveer 6 cm., een 0.9 % Na Cl-oplossing toe, centrifugeerde nog eens en goot weer af, voegde nu een met de vloeistof van Locke overeenkomende zoutoplossing

toe, centrifugeerde ten derde male en goot zooveel vloeistof uit het buisje dat er ongeveer 1 ccm overbleef. Door even te schudden had ik nu een suspensie van driemaal gewassen microphagen.

Om twee redenen gaf ik er de voorkeur aan als laatste suspensie-vloeisiof, in plaats van een 0.9 % keukenzoutoplossing, een oplossing te gebruiken, die behalve natriumchloride ook calciumchloride, kaliumchloride en natriumbicarbonaat bevatte.

Ten eerste ligt het voor de hand te veronderstellen, dat de physiologische vloeistoffen, die in het algemeen de beste resultaten geven voor de doorspoeling van overlevende zoogdierorganen, ook het meeste geschikt zullen zijn voor buiten het organisme levende phagocyten.

Ten tweede heeft Hamburger¹⁾ experimenteel aangetoond, dat calciumionen het phagocyttaire vermogen van deze cellen gunstig beïnvloeden.

Nu is het recept van de vloeistof door Locke en Rosenheim²⁾ aangegeven:

Na Cl	0.9 %
K Cl.	0.042 %
Ca Cl ₂ (anhydr.)	0.024 %
Na H CO ₃	0.02 %

Daarbij voegt Locke nog 1 tot 2 pro mille glucose. Dit laatste heb ik niet gedaan, daar de toevoeging van deze energiebron voor mij onnoodig scheen, waar ik aan de leucocytsuspensie in mijn experimenten altijd nog serum toevoegde.

Locke is tot de hier aangegeven concentratie der

¹⁾ Hamburger l. c.

²⁾ Locke and Rosenheim. Contribution to the physiology of the isolated heart. Journal of Physiology, 36, 1907, p. 8.

Locke. Zentralbl. f. Physiol. 14. 1900. S. 672. Geciteerd uit het artikel van Hofmann in Nagel's Handbuch der Physiologie. Bd. I S. 249.

calcium- en kaliumionen gekomen door berekening uit de gemiddelde aschanalyses van het zoogdierenbloed volgens Abderhalden.¹⁾

Wel wordt in de asch van het bloedserum behalve de genoemde elementen nog magnesium, phosphorus en zwavel gevonden, maar ik meende daarvan te mogen afzien, waar volgens verschillende onderzoekers²⁾ de toevoeging van magnesiumzouten, phosphaten en sulfaten van geen invloed is op het resultaat van doorstromingsproeven. Daarenboven werden in mijn experimenten sporen van deze substanties nog met het serum toegevoegd. Ik moet echter opmerken, dat Hamburger (l. c.) aan de magnesiumionen een bevorderenden invloed op de phagocyten toekent, in denzelfden zin als die van het calcium, maar in veel mindere mate.

In de proeven met het overlevende hart bleken Ca- en K-ionen een zeker antagonisme tegenover elkander te vertoonen. Ca-ionen versterken de werkzaamheid van de hartspier, K-ionen verzwakken ze.

Voor de calciumionen heeft Hamburger aangetoond, dat zij de phagocytose versterken, wanneer zij slechts in sporen aan een Ca-vrije suspensievloeistof worden toegevoegd. In sterkere concentratie (0.2 % Ca Cl_2 6 aq. in serum opgelost) doen zij dit in zeer hooge mate.

Wat de kaliumionen betreft, heeft hij alleen vastgesteld, dat een zeer geringe toevoeging van kaliumchloride aan serum, waarin leucocyten en indifferente corpuscula zijn gesuspenderd, de phagocytose meer belemmert, dan een toevoeging van een isotonische hoeveelheid natriumchloride. De invloed van de toe-

¹⁾ Abderhalden. Lehrbuch der phys. Chemie. 2. Aufl. S. 732.

²⁾ O. Langendorf. Ergebn. der Physiol. Asher u. Spiro. I. 1. S. 302.

” ” ” ” ” ” VI. S. 770.

voeging van sporen kaliumionen aan een kaliumvrije oplossing wordt echter door Hamburger in zijn boek niet vermeld.

Overwegende, dat de toevoeging van wat meer calcium, dan in het bloedserum aanwezig is, slechts gunstig op de phagocyten werkt en wat te veel kalium daarentegen ongunstig, besloot ik de hoeveelheid van het in mijn oplossing op te nemen Ca Cl_2 , zoowel als die van het K Cl te bepalen op 0.03 %; wat het laatste zout betreft, ook om deze reden, dat, wanneer het aan de suspensie toe te voegen serum ook maar een spoortje haemolytisch zou zijn er al te veel K -ionen in zouden zitten. Evenals Locke voegde ik 0.02 % NaHCO_3 toe. De beteekenis van dit zout ligt volgens Langendorff misschien meer in het koolzuur dan in het alkali.

In de oplossing van de drie bovengenoemde zouten, moet nu nog zooveel Na Cl worden opgelost, dat het geheel isotonisch wordt met het bloedserum of wel met een 0.9 % Na Cl -solutie. Locke neemt 0.9 % Na Cl ; beter is het 0.85 % Na Cl op te lossen. Dit is niet onverschillig, want Hamburger heeft aangetoond, dat een kleine hypertonie van de de suspensievloeistof reeds de phagocyten beschadigt, zeer veel meer dan een even groote hypotonie. In verband hiermee besloot ik, waar geringe uitdrogingen tijdens het werken met de kleine hoeveelheden van leucocyten suspensies niet te vermijden waren, de hoeveelheid aan de oplossing toe te voegen Na Cl op 0.8 % te bepalen.

Mijn suspensievloeistof bevatte dus:

Na Cl	0.8 %
Ca Cl_2	0.03 %
K Cl	0.03 %
Na H CO_3	0.02 %

Het water, dat gebruikt werd, was versch gedestilleerd, om in de steriele oplossing geen bacteriënlijken te hebben. De destillatie geschiedde overeenkomstig het voorschrift van Locke in een glazen apparaat, omdat reeds sporen van zware metalen (koper) op levende cellen schadelijk kunnen inwerken.

In den beginne meende ik, dat het gewenscht was, evenals Salimbéni dit had gedaan, mijn exsudaatcellen gedurende de verschillende bewerkingen op lichaamstemperatuur te houden, maar ik zag al spoedig om drie redenen daarvan af.

Ten eerste zijn temperatuurschommelingen tijdens het afwegen der centrifugeerbuisjes, het opzuigen van kleine hoeveelheden in capillaire pipetten enz., niet te voorkomen; ten tweede wordt, wanneer men bij een temperatuur van 37° — 40° C. werkt, met dikwijls niet meer dan druppelgroote hoeveelheden, het gevaar voor uitdroging te groot; ten derde bleek het op temperatuur houden onnoodig te zijn.

R. A. Lambert¹⁾ publiceerde n.l. onderzoeken over den levensduur van weefselculturen in vitro (hij experimenteerde met weefsels van kuiken- en ratten-embryonen), wanneer deze bij verschillende temperaturen werden bewaard. De levensvatbaarheid van de weefsels werd beoordeeld naar de mogelijkheid om nieuwe culturen te geven. Hij vond nu, dat een weefsel nog culturen geeft wanneer het bewaard wordt:

bij -7° (zonder bevroezing)	gedurende	6—8	dagen.
" -0° of 1°	"	8—9	"
" 6° — 7°	"	15—18	"

¹⁾ R. A. Lambert. The influence of temperature and fluid medium on the survival of embryonic tissues in vitro. Journal of exp. Medicine, vol. XVIII, p. 406—411; Octobre 1913.

bij 12° - 14°	gedurende 12	dagen.
„ 11° - 21°	„ 9-11	„

Zooals te verwachten was, doodde beevriezing de weefsels. Het milieu waarin een weefsel bewaard werd, physiologische zoutoplossing, Ringer'sche vloeistof, serum of plasma, had geen invloed op den levensduur, evenmin de hoeveelheid daarvan.

In overeenstemming daarmee kon ik constateeren, dat een verblijf van exsudaatcellen in vitro bij kamertemperatuur haar zeker niet sneller deed sterven, dan wanneer ik ze in de broedstoom onder overigen gelijke omstandigheden bewaarde.

Zoo kon ik b.v. aan exsudaatmicrophagen, die drie maal waren gecentrifugeerd en gewasschen en daarna gedurende 6 uren bij kamertemperatuur waren bewaard, nog zeer mooi de amoeboïede bewegingen bestudeeren, wanneer zij op een verwarmde objecttafel werden gebracht. Dit was het geval zoowel met de exsudaatcellen uit de buikholte van de cavia, als met de polynucleaire leucocyten, die ik uit het vocht van een blaas, die ik ik door middel van een vesicans op mijn huid had getrokken, kon isoleeren.

De cellen vertoonden dan echter reeds bedenkelijke verschijnselen; van het protoplasma snoerden zich grootere of kleinere stukjes af, die zich dan zelfstandig bewogen. Een dergelijke „amitotische deeling" is ook door andere onderzoekers aan overlevende polynucleaire leucocyten waargenomen en door Weidenreich, zooals ik reeds vroeger vermeldde, m. i. terecht, als een degeneratieverschijnsel geduid.

Wanneer de microphagen een dag in vitro hadden doorgebracht, waren er nog wel enkele, die amoeboïede bewegingen bij verwarming op 37°—40° C. verloonden; er waren dan echter nog maar weinig cellen in vrij

goeden staat, waarschijnlijk doordat de meesten met het afsnoeringsproces waren te gronde gegaan.

Na twee dagen kon ik slechts bij uitzondering aan enkele zeer leelijke cellen bewegingen waarnemen.

De exsudaatmicrophagen bleken dus in vitro in verhouding met de weefselcultures van Lambert vrij snel af te sterven en het lag voor de hand te vermoeden, dat de talrijke bewerkingen, met welke voorzorgen ook uitgevoerd, daaraan niet onschuldig waren.

Later heb ik echter deze meening laten varen, toen ik door litteratuurstudie en eigen onderzoek tot de conclusie kwam, dat het met de bij ontstekingen optredende microphagen in vivo al niet veel beter gesteld is.

Maar toch hoopte ik, dat deze cellen in mijn experimenten een voldoende levensduur zouden hebben om haar bactericide werking te volbrengen.

Deze hoop is echter niet vervuld geworden, en ik meen nu, dat de voornaamste oorzaak van deze mislukking in de microphagen qua tales te zoeken is, al kan ik dit ook niet met zekerheid bewijzen.

Met enkele woorden wil ik nu nog ingaan op de wijze, waarop ik trachtte de bactericidie van de gewassen exsudaatmicrophagen te bepalen.

Waar het ten slotte mijn bedoeling was na te gaan in hoeverre de polynucleaire leucocyten van het actief geïmmuniseerde dier sterker bactericid zouden werken dan die van het niet geïmmuniseerde, en wel afgezien van de werking van het specifieke immuunserum en het daarvoor noodzakelijk was de leucocyten van het immuunserum te bevrijden, besloot ik in de voorproeven over leucocyten-bactericidie in het algemeen met drie maal gecentrifugeerde en gewassen exsudaatcellen te werken en hieraan dan weer serum toe te voegen om een goed milieu te krijgen.

Dit bood bovendien het voordeel, dat ik het serum, dat de leucocyten in de proeven zou omspoelen, kon inactiveren, wat ten eerste gewenscht was om een eventueele normale serumbactericidie op te heffen en ten tweede de experimenten in zooverre meer op de toestand in vivo zou doen gelijken, dat er evenals in het lichaam van het levende dier geen vrij complement aanwezig zou zijn.

De vraag was nu, op welke wijze het inactiveren van het serum zou moeten geschieden.

Bail en Suzuki¹⁾ meenden in hun onderzoekingen te hebben, aangetoond, dat leucocyten wel degelijk in geïnactiveerd serum bactericid kunnen werken, maar men moest dan niet door verwarming, maar door andere middelen het serum inactiveren, b.v. door specifieke complementbinding van bacteriën.

Nu zijn er in de laatste 10 jaren behalve deze nog verscheidene methoden bekend geworden om serum anders dan door verwarming te inactiveren.

Jacoby en Schütze²⁾ toonden aan, dat men cavia-serum kon inactiveren door het $1\frac{1}{2}$ uur lang te schudden bij 37° C. of 6 uur bij 16° C. Ritz³⁾ voegde hieraan toe, dat 10 maal verdund cavia-serum reeds door 25 minuten schudden in den „kinotherm” bij 37° C. inactief werd gemaakt; een half uur schudden bij 37° was daarentegen voor onverdund serum nog niet voldoende.

Verder hebben sommige schrijvers methoden gepubliceerd, die zouden berusten op een physische absorbtie door chemisch indifferente stoffen. Aldus b.v.

¹⁾ Bail u Suzuki. Arch. f. Hyg. Bd. 73.

²⁾ Jacoby u. Schütze. Ueber die Inaktivierung der Komplemente durch Schütteln. Z. f. Immf. Bd. IV, S. 730; 1910.

³⁾ Ritz. Z. f. Immf. Bd. XV, S. 145.

de door Friedberger en Salecker¹⁾ beschreven absorbtie van het complement door kaoline, waarvan 0.2 gr. voldoende zou zijn om 2 ccm. cavia-serum in een half uur te inactiveren. Volgens Landsteiner, Stankowic en Uhlic²⁾ berust dit echter niet op een fysisch, maar op een chemisch proces en met name zou het zure karakter van het kaoline daarvoor verantwoordelijk zijn.

Maar voor mijn doel waren deze beide methoden toch niet geschikt. Het schudden van onverdund serum zou veel te lang duren en bovendien beschikte ik niet over een krachtig beweegbaren „kinotherm” en van het kaoline vreesde ik een storenden chemischen invloed.

Heel goed uitvoerbaar daarentegen was de vroeger reeds genoemde inactivering door orgaancellen. Uit de proeven van Hoke (l. c.) b.v. bleek, dat een contact van konijnenserum gedurende gedurende $\frac{1}{2}$ uur met verschillende orgaancellen, vooral die van lever en nier, bij 37° C. voldoende was om dit serum te inactiveren.

Aan de suspensie van leucocyten in de vloeistof van Locke, werd nu een zekere hoeveelheid van op dergelijke wijze geïnactiveerd serum toegevoegd.

Van de aldus verkregen leucocytensuspensie bleek een afgemeten quantum niet in staat ook maar de kleinste hoeveelheid toegevoegde bacteriën (ik gebruikte eerst pneumococcen, later *Vibrio Metchnikoff*) te vernietigen.

Wat de uitvoering van deze experimenten betreft, wil ik alleen nog opmerken, dat de leucocyten-bacteriën-suspensies werden opgenomen in buisjes van

¹⁾ Friedberger u. Salecker. Z. f. I. Bd. II. 1911, S. 574.

²⁾ Landsteiner u. Stankowic. Centralbl. f. Bakt. Bd. 41, S. 108.
Landsteiner u. Uhlic. Centralbl. f. Bakt. Bd. 40, S. 363.

Jena's glas, tegelijk met een ruime hoeveelheid lucht, voor de respiratie der cellen. De buisjes werden daarop dichtgesmolten en gedurende 12 uur op 37° in de broedstoof gehouden, terwijl zij zich bevonden in een apparaat, dat door langzame beweging voor een goede menging van leucocyten en bacteriën zorg droeg.

Zoo de gebruikte exsudaatleucocyten dus in vivo al in staat zouden zijn geweest, om de betrokken bacteriën te vernietigen, dan degenereerden zij in mijn experimenten te snel om deze werking te kunnen uitoefenen.

Ik zette deze experimenten niet verder voort, omdat door de bestudeering van de litteratuur en door eigen onderzoekingen, langzamerhand bij mij de overtuiging was opgekomen, dat het den polynucleairen leucocyten, die bij ontstekingen optreden, in vivo al niet veel beter gaat dan in mijn glazen buisjes.

Mijn vertrouwen in de kans op slagen verminderde daardoor in die mate, dat ik besloot deze proefnemingen te staken.

V.

Het is bekend, dat bij etterige ontstekingen de meeste etterlichaampjes te gronde gaan.

Deze etterlichaampjes bestaan, bij acute ontstekingen althans, voor verreweg het grootste deel uit polynucleaire leucocyten.

Als Metchnikoff nu meent, dat de cellen, die bij een infectie de phagocytose der bacteriën hebben uitgeoefend, in hoofdzaak microphagen in de organen de immunisatorische eigenschappen van het dierlijk lichaam doen tot stand komen,¹⁾ dan moeten dat wel die leucocyten zijn, welke bij de eerste infectie ongeschonden zijn gebleven.

Dat etterige ontstekingen zoo zelden tot een zekere mate van immuniteit voeren, zou hiermee dus wel in overeenstemming te brengen zijn. Immers, bijna al de hier in het spel komende microphagen gaan, zooals gezegd, te gronde.

Is echter de veronderstelling juist, dat de polynucleaire leucocyten, die bij een infectie optreden, welke niet met eigenlijke ettervorming gepaard gaan en welke dikwijls een meer of minder sterke immuniteit tengevolge hebben, in dit opzicht gelukkiger zijn?

Onwaarschijnlijk zou dit op zich zelf beschouwd zeker niet wezen, want het is duidelijk, dat de verhoudingen van voeding en oxygenatie voor de ontstekingscellen veel minder ongunstig zijn, wanneer deze niet tot abscesvorming leidt, dan wanneer dit wel het geval is.

¹⁾ De opvatting, dat deze functie voornamelijk door de *microphagen* wordt verricht, welke de bacteriën hebben gefagocyteerd, wordt door Metchnikoff nog eens uitdrukkelijk uitgesproken in Kolle u. Wasserm. Bd. II. 1. S. 710.

Verschillende schrijvers hebben over het lot der polynucleaire cellen bij infecties, waarvan het doorstaan een zekere mate van immuniteit voor het aangetaste dier zou kunnen doen ontstaan, mededeelingen gedaan.

De meesten komen daarin tot de conclusie, dat, zoo al een deel der betrokken polynucleaire leucocyten ongedeerd langs bloed- en lymphbanen den haard der infectie weer kunnen verlaten, toch zeker het grootste gedeelte te niet gaat, hetzij doordat zij onder allerlei degeneratieverschijnselen uiteenvallen, hetzij doordat zij door de macrophagen worden opgevreten. Deze laatste elementen zijn het ook, die de overblijfselen van de uiteengevallen microphagen opnemen.

De rol, die de macrophagen in dit verband uitoefenen, is m. i., zooals ik aanstonds zal betoogen, van het allergrootste belang, zoowel voor de genezing der infectieziekten als voor het eventueel tot stand komen van een zekere mate van immuniteit.

Het verschijnsel, dat polynucleaire exsudaatcellen door macrophagen worden opgevreten, is reeds voor jaren door verschillende onderzoekers van het Institut Pasteur e. a. vermeld, zonder dat zij echter op de beteekenis daarvan nader zijn ingegaan.

Tchistovitch¹⁾ geeft bij zijn verhandeling over de vraag of de epitheelcellen der longalveolen ook phagocytair vermogen bezitten, een afbeelding van een macrophaag uit de long van een cavia (Pl. VII fig. 126), die, behalve roet, ook een polynucleaire leucocyt heeft opgevreten. Hij spreekt er echter niet verder over.

Trapeznikoff²⁾ vermeldt, dat hij bij kikvorschen, die $\pm$ 48 uren na de inspuiting van miltvuursporen

¹⁾ Tchistovitch. Les phénomènes de phagocytose dans les poumons. Ann. Past. 1889. T. III, p. 337.

²⁾ Trapeznikoff. Du sort des spores de microbes dans l'organisme animal. Ann. Past. 1891. T. V, p. 362.

in de broedstoof werden gehouden (37°), op sommige plaatsen macrophagen vond, die zoowel geïsoleerde sporen als microphagen met hun inhoud van eveneens gefagocyteerde sporen hadden opgenomen (Pl. X fig. 8).

Sabrazès en Colombot¹⁾ beschrijven, hoe, na injectie van miltvuurbacillen bij het zeepaardje, in de lever de endotheelcellen der bloedcapillairen krachtig meedoen aan de phagocytose, zich omvormen tot ster-cellens van Kuppfer en macrophagen van groote afmetingen worden, die zoowel roode bloedlichaampjes als bacteriën en phagocyten opvreten. Hier geldt het echter mononucleaire, daar dit dier geen polynucleaire leucocyten heeft.

Mesnil²⁾ constateert, dat eenige dagen na een intraperitoneale injectie van de bacillen van de varkens-roos (rouget des porcs) bij muizen mononucleaire cellen worden gevonden, die polynucleairen in hun protoplasma ingesloten hebben.

Overeenkomstige verschijnselen merkte Besredka³⁾ op bij aseptische ontstekingen, naar aanleiding van zijn merkwaardige onderzoekingen over de immuniteit van cavia's tegenover arsenicumderivaten. Hij stelde vast, dat de polynucleose, die men door verschillende stoffen in de buikholte van deze dieren kan verwekken, gevolgd wordt door een „crise mononucleaire”, gekenmerkt door een groot aantal macrophagen, waarvan er velen een, twee of meer polynucleaire leucocyten bevatten.

Dat microphagen, die bacteriën hebben gefagocyteerd,

¹⁾ Sabrazès et Colombot. Action de la bactéricidie char-bonneuse sur un poisson marin, l'hippocampe. Ann. Past. 1894. T. VIII, p. 696.

²⁾ Mesnil. Sur la mode d'action du sérum préventif contre le rouget des porcs. Ann. Past. 1898. T. XII, p. 481.

³⁾ Besredka. Etude sur l'immunité vis-a-vis des composés arsénicaux. Ann. Past. 1899. T. XIII.

op hun beurt weer door macrophagen worden opgevreten, is o. a. ook bij experimenteele infectie met den tuberkelbacil waargenomen.

Voor zoover mij bekend, is dit het eerst door Metchnikoff¹⁾ beschreven bij de experimenteele tuberculose van een in de omstreken van Odessa levende rattensoort (*Spermophilus guttatus* Temminck). Wanneer hij bacillen bij deze dieren onder de huid inspoot, of ook in de voorste oogkamer of in het bloed, dan zag hij, dat zij onmiddellijk opgenomen werden door de polynucleaire leucocyten. Daarna verschenen de groote mononucleaire leucocyten, die de microphagen met inhoud en al opvrat, zoomede ook die bacillen, die nog nog niet door deze cellen waren gefagocyteerd.

Borrel²⁾ ging de ontwikkeling van de longtuberculose na, die hij door intraveneuze injectie van bacillen bij konijnen deed ontstaan. Onmiddellijk na de injectie bleken de bacillen daarbij opgenomen te worden door polynucleaire leucocyten. Reeds op het einde van den tweeden dag traden echter mononucleaire leucocyten op, die de met bacillen beladen degenererende polynucleairen in zich opnamen en zich vervolgens vereenigden tot reuzencellen, die de bacillen tezamen met de resten der polynucleaire cellen in hun protoplasma insloten.

Na ongeveer 20 dagen gingen echter ook de conglomeraten van reuzencellen en losse mononucleaire cellen, de tuberkels te gronde en wel onder het proces der verkazing. Van dit oogenblik af breidde de infectie zich snel uit en leidde spoedig tot den dood van het proefdier.

¹⁾ Metchnikoff. Ueber die phagocytaire Rolle der Tuberkelriesenzelle. Virchows Archiv. Bd. C. XIII, S. 63.

²⁾ Borrel. Tuberculose pulmonaire expérimentale. Ann. Past. 1893. T. VII, p. 593.

Dembinski¹⁾ nam overeenkomstige verschijnselen waar na subcutane injectie van vogeltuberkelbacillen bij duiven. De phagocytose was hier gedurende de eerste twee dagen overwegend polynucleair; tegen den derden dag begonnen deze microphagen te degenereren en den vijfden dag waren ze geheel verdwenen. Op het tijdstip, dat het degenereren van deze cellen begon, traden de mononucleaire leucocyten op. Deze namen langzamerhand geheel de plaats in van de polynucleairen en bleven er definitief. Soms zag hij mononucleaire cellen, die polynucleaire met hun inhoud van gephagocyteerde bacteriën in zich hadden opgenomen.

Spoort Dembinski daarentegen menschenlijke tuberkelbacillen bij de duiven in, dan was het beeld anders. Van meet af aan verschenen tegelijk polynucleaire en mononucleaire cellen; het was dadelijk een gemengde leucocytose. De phagocytose was niet sterk uitgesproken, wanneer men de leucocyten afzonderlijk beschouwde; daarentegen was hier meer een collectieve actie van de mononucleairen, die zich van de eerste uren af gingen rangschikken in een kring om de bacillen heen, om zich ten slotte te vereenigen tot echte reuzencellen. Het aantal van deze reuzencellen nam snel toe. De polynucleaire leucocyten deden aan deze vorming van reuzencellen niet mee. Of deze polynucleairen te gronde gingen of verdwenen en of de macrophagen daarin een rol vervulden, vermeldt Dembinski niet; maar van zijn teekeningen krijgt men den indruk, dat er na 24 uren relatief t. o. van de mononucleaire cellen toch niet veel meer waren.

Uit de hier besproken onderzoekingen blijkt dus reeds, dat zoowel bij infectieuze als bij aseptische

¹⁾ Dembinski. La phagocytose chez le pigeon à l'égard du bacille tuberculeux aviaire et du bacille humain. Ann. Past. 1899, T. XIII, p. 426.

ontstekingen het verschijnsel wordt gezien, dat polynucleaire leucocyten door macrophagen worden gefagocyteerd.

In dit verband wil ik ten slotte nog Levaditi¹⁾ noemen, die verscheidene afbeeldingen geeft van macrophagen, die de bij een aseptische ontsteking optredende microphagen in zich hebben opgenomen.

Tot zoover de onderzoekers van het Institut Pasteur.

Behalve deze, die zich met de studie der immuniteitsvraagstukken bezig hielden, hebben ook verschillende histologen hetzelfde verschijnsel waargenomen:

Heidenhain, Marchand en Czaplewski, die het slechts terloops noemen en wier werken ik alleen uit referaten ken, zal ik hier voorbijgaan; daarentegen zal ik wat nader ingaan op de schitterende experimenten van Maximow.

Maximow²⁾ zag bij de door steriele corpora aliena veroorzaakte ontsteking o. a. ook polynucleaire leucocyten optreden. Deze verdwenen echter na eenigen tijd weer, doordat ze, of misschien zich verwijderden, of degenereerden en dan in hun geheel of in brokstukken door de macrophagen (polyblasten van Maximow) werden opgenomen.

Bij zijn onderzoekingen over de etterige ontsteking³⁾ in het subcutane en intermusculaire bindweefsel, vond hij, dat ook hier de polynucleaire leucocyten ten slotte weer geheel verdwenen en dat ook hier dit in hoofdzaak gebeurde door degeneratie en phagocytose door de

¹⁾ Levaditi. Contribution à l'étude de l'anémie expérimentale. Etat de la cytase hémolytique dans le plasma des animaux normaux. Ann. Past. 1902. T. XVI, p. 233. (Zie Pl. VI).

²⁾ Maximow. Experimentelle Untersuchungen über die entzündliche Neubildung von Bindegewebe. Beiträge z. pathol. Anat. u. z. alg. Pathol. (Ziegler) 1902. Fünftes Supplementheft. (I).

³⁾ Maximow. Histologie der eitrigen Entzündung Ibidem. Bd. 38, 1905, S. 302. (II).

macrophagen. De macrophagen traden hier dus op als etterphagocyten. Volgens Maximow behooren deze cellen als regel tot de groep der „polyblasten”; alléén een enkele maal kunnen misschien ook „fibroblasten” als zoodanig fungeeren. Deze etterphagocyten gingen echter in de experimenten van Maximow op hun beurt weer voor het grootste deel te gronde; slechts voor een klein gedeelte acht hij het mogelijk, dat ze zich als sessiele elementen konden handhaven.

De polyblasten, die dus in hoofdzaak de cellen zijn, die de microphagen opvreten, zijn volgens Maximow lymphoïede cellen, die óf uit oorspronkelijk sessiele „Wanderzellen” (d. w. z. vrije en niet vaste cellen) zijn ontstaan, óf uit cellen, die uit de bloedbaan zijn geïmmigreerd.

De meeste onderzoeken over de ontstekingen zijn misschien wel gedaan door bij proefdieren ontstekingen van de sereuze vliezen, vooral die van het peritoneum, te verwekken en zoowel het gevormde exsudaat als de aan de vliezen zelf optredende verschijnselen te bestudeeren. Zoo toonde Cohnheim in zijn beroemd geworden experiment de emigratie van de witte bloedlichaampjes uit de capillairen aan bij het mesenterium van den kikvorsch. Ook voor de studie der immuniteitsvraagstukken hebben experimenteele infecties van de sereuze holten steeds een groote rol vervuld.

Waar de straks door mij te beschrijven eigen onderzoeken eveneens een infectie der sereuze vliezen betreffen, wil ik hier in 't kort de resultaten bespreken, waartoe de moderne schrijvers t. o. van de normale structuur dezer vliezen en de verschijnselen der ontsteking daarvan zijn gekomen.

Wanneer ik hier spreek over sereuze vliezen, heb ik op het oog het peritoneum (resp. omentum en

mesenterium), de pleura en het pericard. De endotheelbekledingen van de gewrichtsholten en de slijmbeurzen wil ik hier buiten bespreking laten.

Wat nu de structuur van de bedoelde vliezen betreft huldigen vele Duitsche schrijvers de opvatting, dat zij zouden bestaan uit een onderlaag van fibreus bindweefsel, die geheel overdekt is met een laag van plaveisel-epitheelcellen, die alle op een structuurlooze, volkomen doorschijnende basaalmembraan gelegen zijn. Zij houden daarbij vast aan de meening, dat men hier met een echt epitheel te doen heeft, dat volgens de door O. Hertwig ontwikkelde theorie uit het middelste kiemblad zou ontstaan zijn, het kiemblad dus, dat de primitieve coeloomholten bekleedde.¹⁾

Kolossow heeft deze opvatting willen steunen door de waarneming, dat de serosadekcellen een karakteristieken haartjeszoom zouden vertoonen. Afgezien daarvan, dat hij dezen zoom niet eens bij alle daarop onderzochte dieren kon aantoonen en hij zelf vermeldt, dat zij bij ieder ontstekingsproces oogenblikkelijk verdwijnt, moet de feitelijke juistheid van dit kenmerk worden betwijfeld. Immers, de meeste andere schrijvers hebben de door Kolossow beschreven haartjes nooit kunnen ontdekken. Ook in mijn eigen praeparaten heb ik er nooit iets van gezien.

Wat het aannemen van een basaalmembraan betreft,

¹⁾ Zie o. a. Rauber-Kopsch. Lehrbuch der Anatomie. Abt. 4, S. 8—9, 7. Aufl.

Kolossow. Ueber die Structur des Pleuroperitoneal- u. Gefäss-epithels. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 42, 1893.

v. Brunn. Ueber die Entzündung seröser Häute mit besonderer Berücksichtigung der Serosa-Deckzellen. Beitr. z. path. Anat. u. allg. Path. Bd. 30, 1901.

Mönckeberg. Ueber das Verhalten des Pleuroperitonealepithels bei der Entzündung von Fremdkörpern. Beitr. z. path. Anat. u. allg. Path. Bd. 34, 1903.

De laatste drie werken geciteerd naar Schott.

een stuctuurlooze, doorschijnende en onzichtbare dan altijd, dit berust, voor zoover mij bekend, alleen op de veronderstelling, dat de serosadekcellen echte epitheelcellen zijn, er dus naar analogie met andere epithelieën wel een moeten hebben.

Het is begrijpelijk, dat zij, die de bovengenoemde meening aanhangen, er niet graag van hooren willen, dat de serosadekcellen zich zoodanig kunnen ontwikkelen, dat zij gelijk staan met de groote macrophagen, die uit lymphoïede cellen kunnen groeien. Vandaar de uit het kamp van de voorvechters dezer theorie voortgekomen bewering, dat deze dekcellen wel is waar bij ontstekingsprocessen worden afgestooten, maar dan ook te gronde gaan en dat wanneer er soms polynucleaire leucocyten in het protoplasma van deze afgestooten cellen worden gevonden, dit niet daardoor komt, dat die polynucleairen zijn gefhagocyteerd, maar integendeel doordat deze laatsten actief in het groote lichaam van de degenererende epitheelcellen zijn binnengedrongen (v. Brunn). Ook is gezegd (Helly) dat deze dekcellen altijd duidelijk waarneembare verschillen vertoonen met de uit lymfocyten ontstane macrophagen.

Wat nu de degeneratie van de afgestooten serosadekcellen betreft, men heeft deze dikwijls reeds beweerd voor de cellen van dien aard, die normaliter in het vocht der sereuze holten worden aangetroffen. O. a. Weidenreich en Schott¹⁾ hebben er echter op gewezen, dat dit stellig niet juist is en alleen gedacht kon worden, wanneer men praeparaten onderzoekt, die op technisch onvoldoende wijze zijn vervaardigd.

Ik zelf heb mij dan ook kunnen overtuigen dat deze cellen niet alleen geen enkel degeneratieverschijnsel

¹⁾ Schott. Die Zellen der serösen Höhlen. Arch. f. mikr. Anat. 1909, Bd. 74, S. 143.

vertoonen, maar zelfs door phagocytaire en mitose-verschijnselen blijkt geven zeer levenskrachtige elementen te zijn. In het volgende hoofdstuk zal ik gelegenheid hebben nader op deze waarnemingen in te gaan.

Aanstonds zal ik terugkomen op de vraag, hoe het gaat met deze cellen bij ontstekingsprocessen.

Ook wanneer het juist is — wat geheel buiten mijn beoordeeling ligt — dat de cellen van het pleuro-peritoneaalepitheel zijn voortgekomen uit cellen van het mesoderm, dan nog is het zoo onmogelijk niet, dat deze zich ontwikkelen tot cellen, die volkomen overeenstemmen met de uit het mesenchym ontstane elementen.

O. Hertwig, door wiens autoriteit de besproken theorie voornamelijk worden gesteund, is zelf een besliste tegenstander van de leer der celspecificiteit. Daarenboven moet men bedenken, dat het mesenchym toch in hoofdzaak uit het mesoderm is voortgekomen.¹⁾

Nu zijn er echter enkele waarnemingen beschreven, die moeilijk met een epitheloïede natuur van de serosadekcellen in overeenstemming zijn te brengen.

Verscheidene Fransche onderzoekers hebben reeds jaren geleden trachten aan te toonen, dat zij als bindweefselementen moeten worden beschouwd, die met de andere bindweefselcellen der sereuze vliezen door middel van protoplasmauitloopers samenhangen.

Zoo zegt b.v. Ranvier:²⁾

„Ces cellules endothéliales du péritoine comme des autres grandes séreuses sont formées d'un protoplasma dans lequel se trouve un noyau ovoïde aplati et d'une cuticule ou plaque que fixe le nitrate d'argent en la

¹⁾ O. Hertwig. Lehrbuch der Entwicklungsgeschichte 8. Aufl. S. 240.

²⁾ Cornil et Ranvier. Manuel d'Histologie pathologique T I, pg. 127.

colorant à ses bords. Le protoplasma cellulaire présente lui même des prolongements par lesquels il s'anastomose avec des prolongements émanés des cellules voisines. Au dessous de la cuticule qui est jusqu' à un certain point indépendante de la cellule, *celle-ci peut être assimilée complètement à une cellule du tissu conjonctif.*"

Dominici¹⁾ betoogt eveneens hoe men ten onrechte de mozaïekfiguren, die men in zilverpraeparaten van het net te zien krijgt, geduid heeft als de grenzen der endotheelcellen. In werkelijkheid zijn deze lijnen slechts de grenzen tusschen de talrijke tabletjes, waaruit de dunne structuurlooze laag bestaat, die het geheele endothelium bedekt. Deze laag is natuurlijk wel door uitscheiding uit de onderliggende endotheelcellen ontstaan, maar bezit t. o. van die cellen een groote mate van onafhankelijkheid. De enthodeelcellen zijn dan ook volstrekt niet door scherpe grenslijnen van elkander gescheiden, maar hangen samen door middel van vele protoplasmaverbindingen en men heeft hier dus te doen met wat Ranvier noemt; „une vaste colonie cellulaire,” „un plasmodium de recouvrement.”

In de praeparaten, die ik zelf van het net van de cavia maakte en die ik met Giemsa kleurde, waren de bovengenoemde grenslijnen dikwijls zeer mooi te zien en op vele plaatsen kwam ook werkelijk met ieder vakje de groote kern van een endotheelcel overeen. Er waren echter ook verscheidene gedeelten, waar een dergelijke overeenstemming in het geheel niet bestond, zoodat, wanneer men de mozaïekvakjes als de grenzen der endotheelcellen zou willen beschouwen, men zou moeten aannemen, dat vele dezer cellen kernloos waren en de onder de lijnen hier en daar liggende kernen,

¹⁾ Dominici. Polynucléaires et macrophages. Arch. de Médecine expérimentale 1902. T. XIV.

die overigens volkomen op die van de endotheelcellen elders geleken, toebehoorden aan andere cellen, waarvan de aard dan nog moeilijk vast te stellen zou zijn.

Maar zooals ik aanstonds nader zal beschrijven, in het eerste stadium van de experimenteele peritonitis, die ik in de buikholte van de cavia verwekte, was ik staat een waarneming te doen, die mij niet doet aarzelen de opvatting, dat de endotheelcellen een samenhangende kolonie vormen, aan te nemen. Ik vond daarbij n.l. in het exsudaatvocht nu en dan groepen van soms wel tien of twaalf endotheelcellen, die blijkbaar gezamenlijk waren afgestooten en het was met groote scherpte te zien, hoe deze cellen door talrijke protoplasmabrugjes met elkaar samenhangen (zie de afbeeldingen).

Dominici meent dat eveneens de fibreuze bindweefselcellen van het net een samenhangende cellenkolonie, een „plasmodium réticulé” (Retterer) vormen; verder onderscheidt hij nog een „plasmodium perivasculaire”, een „plasmodium endothélial vasculaire”, een „plasmodium vaso-formative”, ja, zelfs de vetcellen denkt hij zich tot een „plasmodium adipeux” vereenigd. Al deze plasmodia hebben zich tot een bepaald type gedifferentieerd, behalve de „masses plasmodiales”, beschreven door Retterer ter hoogte van de „taches laiteuses”. Zij hangen onderling door talrijke anastomosen samen en met name geldt dit voor het plasmodium endothélial en het plasmodium réticulé. Dit laatste is dus in overeenstemming met de de bovengenoemde opvatting van Ranvier.

Dit is dus wel lijnrecht het tegenovergestelde van de voorstelling volgens welke de serosadekcellen een specifiek epitheel zouden vormen.

In mijn eigen omentumpraeparaten viel mij al dadelijk de groote overeenkomst op tusschen de kernen van de

dekcellen en die van de eigenlijke bindweefselcellen, en dat, terwijl deze groote ovale kernen met haar structuur zoo duidelijk uitkwamen.

Wel is waar, waren de kernen van de laatstgenoemde elementen dikwijls wat kleiner en van een meer ineengedrongen chromatinenet voorzien; maar dit was lang niet overal het geval en op de dunste plaatsen was het zelfs veelal niet mogelijk, te zeggen of men een endotheelcel dan wel een eigenlijke bindweefselcel voor zich had. Een scherpe scheiding tusschen de beide elementen aan te nemen, zou m. i. beteekenen de directe waarneming met geweld door vooropgezette theoretische meeningen terug te dringen.

De opvatting van de bindweefselnatuur der endotheelcellen is in de laatste jaren ook door verschillende Duitsche schrijvers (Weidenreich en Schott) aangenomen.

Terloops wil ik hier nog even opmerken, dat de uitspraak, dat de lichaamsholten te beschouwen zijn als groote lymphspleten hierin een anatomischen steun vindt.

Behalve de vaste zijn er ook geheel vrije cellen in het omentum. Het zijn lymphocyten, eosinophiele cellen en basophiele. Polynucleaire fijnkorrelige leucocyten komen in het normale omentum, evenmin als elders in het bindweefsel (enkele uitzonderingen daargelaten) buiten de bloedvaten niet voor.

De lymphocyten ontwikkelen zich bij ontstekingen tot groote macrophagen, die de in den aanvang uit de bloedbaan geëmigreerde polynucleaire cellen, de microphagen opvreten.

Nu kunnen ook uit de vaste plasmodia van het omentum dergelijke macrophagen ontstaan. Althans dit is de meening van Ranvier, Cornil, Dominici,

Weidenreich, Schott e. a. In overeenstemming daarmee kon ik constateeren, dat sommige cellen van de boven reeds genoemde gezamenlijk afgestooten celgroepen polynucleaire leucocyten hadden opgevreten (zie de plaat). Dominici, Cornil en Ranvier¹⁾ hebben afbeeldingen gegeven van zulke macrophagen, die nog met het sereuze vlies samenhangen en zelf heb ik dit ook waargenomen.

De boven geciteerde Fransche schrijvers, verder ook Weidenreich en Schott, verklaren, dat zij de uit de vaste elementen ontstane exsudaatcellen niet kunnen onderscheiden van de macrophagen, welke uit lymphocyten zijn ontstaan. Helly²⁾ zegt dit wel te kunnen, maar de door hem daarvoor opgegeven kenmerken, zoo b.v. dat de uit lymphocyten ontstane macrophagen nooit een zeefvormig gevacuoliseerd protoplasma zouden hebben en dat de enthodeelcellen zich zouden doen kennen door een ovale kern, die de anderen nooit zouden hebben, zijn stellig niet juist.

Nu komen in alle adenoïede organen macrophagen voor, die eveneens naar alle waarschijnlijkheid een tweeledigen oorsprong hebben³⁾. Dergelijke cellen vindt men in de lymphklieren, de milt, het beenmerg en in andere lymphoïede weefsels. Zij kunnen ontstaan óf uit de lymphocyten der follikels óf uit de endotheel- en reticulumcellen (l. l. c. c.)³⁾. Neemt men aan, wat vermoedelijk wel zoo is, dat die lymphocyten oorspronkelijk ook uit reticulumcellen zijn ontstaan, dan kan men ze met Dominici (l. c.) noemen: „cellules primordiale-

¹⁾ Manuel T. I.

²⁾ Helly. Zur Morphologie der Exsudatzellen und zur Specificität der weissen Blutkörperchen. Beitr. z. path. Anat. u. z. alg. Path. (Ziegler). 1905. Bd. 37, S. 171.

³⁾ Weidenreich. Die Leukocyten und verwandte Zellformen. o. a. blz. 226.

Dominici l. c.

ment mobilisées" in tegenstelling met de vaste cellen, de „cellules secondairement mobilisables" en zeggen (l. c. pg. 19): „Les macrophages sont des cellules mobiles ou mobilisables appartenant aux systèmes conjonctivo-vasculaire et hémo-lymphatique, douées de la propriété d'englober et de digérer d'autres cellules et des dérivés cellulaires provenant soit de l'organisme dont elles font partie, soit d'organismes  trangers."

Het is duidelijk dat deze gedachtengang eenigszins afwijkt van de vroeger besprokene van Maximow.

Immers, Maximow meent een strenge scheiding tusschen de echte bindweefselcellen, de fibroblasten, en de vrije cellen, de polyblasten, te moeten aannemen. Alleen uit de laatsten zouden zich de macrophagen kunnen ontwikkelen, terwijl de fibroblasten slechts bij uitzondering misschien als zoodanig zouden kunnen optreden.

Nu schijnt het mij zeer wel mogelijk dat het verschillende object, waaraan Maximow en waaraan de Fransche onderzoekers het ontstekingsvraagstuk bestudeeren, de oorzaak van deze uiteenlopende opvattingen is. Maximow experimenteerde in het intermusculaire en subcutane bindweefsel, de anderen bestudeerden de ontsteking van het net.

Het is n.l. de vraag of men de vaste cellen van het door Maximow onderzochte bindweefsel wel geheel op een lijn mag stellen met de bindweefselcellen s. str. van het net, welke laatsten over het algemeen een rijker en minder vervezeld protoplasma hebben. Het is begrijpelijk, dat een cel, waarvan het protoplasma tot een minimum is gereduceerd en in vezels is opgegaan, minder gemakkelijk tot vreetcel zal kunnen worden, dan een, waarbij dit in veel minder mate het geval is. De fibroblasten van Maximow waren echter bij sterke

ontstekingsprikkels wel daartoe in staat. De bindweefselcellen van het onderhuidsche of intermusculaire weefsel hebben dus niet het vermogen verloren, om als macrophagen op te treden, maar het is latent geworden en moeilijker op te wekken.

Hoe het nu ook met de herkomst van de bij een ontsteking in het spel komende macrophagen gesteld is, alle onderzoekers, die haar hebben bestudeerd, hebben waargenomen, dat zij een belangrijke rol vervullen voor het doen verdwijnen van de aanvankelijk opgetreden, uit de bloedvaten geëmigreerde polynucleaire leucocyten.

Dat de aanwezigheid van deze laatste cellen, de microphagen, op het terrein der ontsteking slechts een tijdelijke is en dat zij weer verdwijnen, wanneer het proces tot genezing komt, wordt door allen eenstemmig verklaard.

Zooals ik hiervoor reeds opmerkte, moet de mogelijkheid worden toegegeven, dat een klein gedeelte van deze microphagen weer ongedeerd langs lymphe en bloedbanen ontsnapt; zekerheid bestaat hiervoor echter niet.

Wel staat vast, dat het overgrootste deel ervan, van die n.l. welke men eenigen tijd na het tot stand komen van een infectie in den ontstekingshaard aantreft, teekenen van degeneratie vertoont. Bij Helly (l. c.) vindt men uitvoerige beschrijvingen van de vormen, waaronder deze zich kan voordoen.

In meer of mindere mate van degeneratie, soms als nog niet zichtbaar veranderde cellen, dan weer als uiteengevallen brokstukken, worden deze cellen nu door de daareven besproken macrophagen opgenomen en intracellulair gedigereerd.

In den gedachtengang van Metchnikoff zouden nu alleen de in de eerste plaats genoemde ongeschonden ontsnapte microphagen de verworven immuniteit van het geïnfecteerde dier moeten doen ontstaan. De plaatsen waar deze cellen heentrekken, zouden dan de oorden zijn, waar de antilichamen, die de gemakkelijkst aantoonbare uiting van de nieuw verkregen eigenschap zijn, het eerst moeten worden gevonden.

In een van zijn laatste publicaties¹⁾ spreekt Metchnikoff nog eens duidelijk deze opvatting uit.

Nu hebben Wassermann en Citron²⁾ aangetoond, dat, wanneer men een dier immuniseert door het te infecteren in een der sereuze lichaamsholten, de bacteriede eigenschappen der lichaamsvochten in de eerste plaats ontwikkeld worden in het betrokken sereuze vlies. Wanneer het nu de ongedeedd ontsnapte microphagen zouden zijn, die daarvan de bron waren, dan zou men moeten aannemen, dat na een intraperitoneale ontsteking b.v. deze in hoofdzaak in het net en de andere sereuze vliezen van de buikholte zouden schuilen, wat Metchnikoff dan ook inderdaad doet.

Echter leeren alle daarop ingaande onderzoekingen, dat na afloop van een ontsteking alle polynucleaire fijnkorrelige leucocyten, de microphagen dus, uit het extravasculaire weefselgebied weer geheel verdwijnen. Waar men dus tot het besluit komt, dat in dit geval de cellen van de sereuze vliezen der buikholte in de eerste plaats de dragers van de nieuw verworven immuniteit moeten zijn, dan kunnen dit niet microphagen zijn.

¹⁾ Metchnikoff in Kolle u. Wassermann. II. I. S. 710.

²⁾ Wassermann u. Citron. Deutsche med. Wochenschr. 1905. S. 573. Zeitschr. f. Hyg. 1905. Bd. 50, S. 331. Geciteerd naar Metchnikoff l. c. II, en naar Müller, Vorlesungen über Infektion und Immunität.

Wanneer men een dier immuniseert langs intraveneuzen weg, dan wordt de milt de voornaamste plaats der antilichamenproductie. Dit is door de experimenten van Pfeiffer en Marx,¹⁾ van Wassermann en Takaki²⁾ en van Detre Deutsch³⁾ voldoende bewezen. Is het hier soms mogelijk dit daaraan toe te schrijven, dat de microphagen, die de bacteriën hebben opgevreten, in dat orgaan de antilichamen gaan vormen? Nu is het wel waar, dat men reeds kort na de infectie een groot aantal met bacteriën beladen microphagen in de milt kan terugvinden, maar het moet zeer betwijfeld worden of zij daar zelfs voor een klein deel in ongeschonden staat rustig blijven voortleven en voor het organisme zoo belangrijke nieuwe eigenschappen kunnen ontwikkelen.

Ook hier worden deze cellen n.l. reeds spoedig op groote schaal door de macrophagen van dit orgaan opgenomen en gedigereerd⁴⁾ en hoewel het hier, waar altijd polynucleaire leucocyten in de milt gevonden worden, natuurlijk niet te zeggen is, of alle microphagen, die met de bacteriën in aanraking zijn gekomen, te gronde gaan, zullen de overlevende in het gunstigste geval toch maar een klein deel van het geheel uitmaken. Hoewel men niet kan zeggen onmogelijk, als bij de infecties der sereuze holten, wordt het hier dus ook moeilijk aan te nemen, dat de overgebleven microphagen de antistoffen leveren.

Maar welke cellen doen het dan?

Zoowel voor de sereuze vliezen als voor de milt

¹⁾ Pfeiffer u. Marx. Zeitschr. f. Hyg. 1898. Bd. 27, S. 272,

²⁾ Wassermann u. Takaki. Berl. klin. Wochenschr. 1898, S. 209.

³⁾ Detre Deutsch. Ann. Past. 1899. T. 13. p. 689.

⁴⁾ Zie o.a. Cornil et Ranvier. Manuel d'histologie pathologique. T. III.

moeten het wel de andere cellen zijn, de cellen, uiteenlopend van vorm en gedaante, die wij als macrophagen hebben leeren kennen.

Welnu, het is zeer wel mogelijk zich een voorstelling te maken van de wijze waarop de macrophagen tot het doen ontstaan van immunisatorische eigenschappen worden opgewekt.

Immers, deze cellen komen, zooals ik boven heb besproken, in nauw contact met het ontstekingsproces. Het zijn deze cellen, die, door ze te phagocyteeren, althans het overgrootste deel der microphagen doen verdwijnen. M. a. w., zij vreten cellen op, die op hun beurt bacteriën hadden opgenomen en die in hun protoplasma nog talrijke meer of minder ver afgebroken bacteriënstoffen moeten bevatten. Deze stoffen komen nu, van de eerste gevaarlijkheid ontdaan, in het lichaam van den macrophaag en blijkbaar reageert deze cel daarop, niet alleen met het geheel volbrengen van de vernietiging dezer substanties, maar ook met de vorming van tegen deze antigenen gerichte antistoffen.

Dat men ook om andere redenen tot het besluit moet komen, dat de microphagen niet de dragers van de verworven immuniteit kunnen zijn en daarentegen de macrophagen wel als zoodanig kunnen worden beschouwd, zal ik in het laatste hoofdstuk van mijn proefschrift trachten aan te toonen.

Eerst wil ik een overzicht geven van de experimenteele ontsteking, die ik zelf bestudeerde, de door Vibrio Metchnikoff veroorzaakte peritonitis bij de cavia.

VI.

Uit de in het vorige hoofdstuk besproken onderzoekingen blijkt, dat bij ontstekingen hoogstens een klein deel van de microphagen ongeschonden ontkomt, terwijl de groote meerderheid te gronde gaat. In dit laatste hebben de macrophagen een belangrijk aandeel, doordat zij de microphagen of hun overblijfselen in zich opnemen en intracellulair digereeren, een verschijnsel, dat ik in het vervolg met den naam van *leucophagie* zal bestempelen ¹⁾.

Van deze feiten wilde ik mij door eigen aanschouwing overtuigen, in de eerste plaats om het groote belang, dat ik er voor het begrip van het tot stand komen der verworven immuniteit aan hechte. Maar ook wilde ik deze experimenten doen, om zeker te zijn, dat zij waar bleven, wanneer bijkomstige, te vermijden oorzaken voor het te gronde gaan der microphagen zouden uitgeschakeld zijn.

Als zoodanig beschouw ik n.l. een te heftige infectie, die den dood van het dier tengevolge zou hebben of althans een zeer verderfelijken invloed op de lichaams-cellen zou uitoefenen of ook een infectie, waarbij een groot of een etterig exsudaat zou optreden, in welk geval de voeding en de oxygenatie der ontstekings-cellen natuurlijk bovenmatig te kort schiet.

Ten derde stelde ik er prijs op, deze verschijnselen waar te nemen bij een infectie, waarvan ik zou mogen

¹⁾ Dominici noemt het vermogen van de macrophagen om andere cellen, erythrocyten, polynucleaire leucocyten enz., te phagocyteeren, de „fonction gigantophagocytaire”.

Met het woord leucophagie wil ik alleen aanduiden het opnemen en digereeren van leucocyten en wel niet slechts van polynucleaire leucocyten, van microphagen, maar ook van die mononucleaire cellen, welke bij het ontstekingsproces te gronde gaan.

verwachten, dat zij in staat zou zijn het proefdier een zekere mate van immuniteit te doen verwerven.

Ik koos voor mijn onderzoek als proefdier de cavia cobaya, als pathogeen microorganisme den *Vibrio Metchnikoff*. Het gelukt zeer gemakkelijk de cavia tegen dezen vibrio te immuniseeren, die voor mijn proeven het voordeel bezit, dat er zonder moeite een gelijkmatige suspensie van te maken is.

Door dierp passages en cultuur „en sac de collodion” werd de stam, die afkomstig was uit het Instituut Kral, tot zekere virulentie gebracht, zoodat $\frac{1}{50}$ deel van een 12 uur oude cultuur op schuine agar in staat was een cavia 300 gr. na intraperitoneale injectie binnen 24 uur te doden. Wanneer ik een cavia een dosis inspoot, die hem na 24 uur nog niet had gedood, gebeurde het zelden, dat het dier later nog overleed. In de buikholte van het proefdier vormde zich tengevolge van de injectie een dun vloeibaar serocellulair exsudaat.

Mijn onderzoek betrof nu in de eerste plaats de cellulaire verschijnselen van het na inspuiting van dezen vibrio in de buikholte gevormde exsudaat.

Gewoonlijk heeft men een dergelijk onderzoek aldus verricht, dat men bij het levende dier met een fijn glascapillair door den buikwand heenprikt en het ontstekingsvocht door de capillaire krachten in het buisje liet opstijgen.

Hierbij is echter nooit uitgesloten en zal zelfs in den regel niet te vermijden zijn, dat kleine minimale bloedingen in de sereuze holten plaats vinden, genoeg althans om daarin altijd een aantal bloedcellen te vinden, die er tevoren niet in waren.

Ik heb nu getracht aan dit bezwaar tegemoet te komen, door voor ieder onderzoek telkens een nieuw

proefdier te nemen, dit eerst uit de carotis te laten verbloeden en pas daarna de buikholte te openen. Daarop werd met een Pasteursche pipet voorzichtig een weinig exsudaat opgezogen, waarbij men dus à vue werkte en laesies van de intestina kon vermijden.

De experimenten worden nu als volgt uitgevoerd:

Een aantal cavia's van dezelfde soort en van ongeveer gelijk gewicht (300—400 gr.) ontvingen tegelijkertijd een intraperitoneale injectie van een bepaalde hoeveelheid der vibrionensuspensie. Dit geschiedde aldus, dat de dieren, terwijl zij met den kop naar beneden werden vastgehouden, zoodat de intestina naar het diaphragma toe werden verplaatst, met een zeer dunne naald van een Record-spuutje door den buikwand van de regio hypogastrica heen werden geprikt. Op deze wijze kon het virus zonder een spoor van bloeding in de sereuze holte worden ingespoten ¹⁾. De dosis was gewoonlijk ongeveer $\frac{1}{100}$ ccm. van een 12 uur oude cultuur der vibrio op schuine agar. Na verschillende tijden werd nu een dier uit de carotis verbloed en onmiddellijk daarna werden praeparaten gemaakt van de cellen van het exsudaat, van het omentum, het mesenterium, de milt en het beenmerg.

Verreweg de belangrijkste plaats nam het onderzoek der exsudaatcellen in.

Iedereen, die getracht heeft mooie praeparaten van de cellen der ontstekings-exsudaten te maken, weet dat dit moeilijk is.

Wanneer men poogt op overeenkomstige wijze, als bij het maken van bloedpraeparaten gebruikelijk is, deze cellen te fixeeren en te kleuren, bereikt men geen resultaten, die daarmee op een lijn te stellen

¹⁾ Dit bleek uit het onderzoek van het peritoneaalexsudaat in de eerste periode na de inspuiting (zie aldaar).

zijn. Zoo goldt dan ook langen tijd, dat het niet mogelijk was van exsudaatcellen goede Romanowsky-praeparaten te maken.

Szécsi ¹⁾ heeft daarvoor nu een methode aangegeven, die vrij goede resultaten geeft en die ik hier even wil opgeven, omdat zij op het oogenblik voor de kliniek nog wel de meest bruikbare is.

Zijn voorschrift is het volgende:

1. Strijk een zeer klein druppeltje van het exsudaatvocht in dunne laag uit over een dekglasje met behulp van een ander dekglasje.
2. Laat snel drogen aan de lucht (broedstoof).
3. Fixeer 2—2½ minuut met Leishmans Stain.
4. Doe Aq. dest. in dezelfde hoeveelheid daarbij en kleur 30—35 seconden.
5. Spoel af met aq. dest.

Ik heb deze methode enkele malen geprobeerd en vond de resultaten vrij goed, maar toch niet gelijkstaande met die welke men bij de bloedpraeparaten bereikt.

Daarentegen kreeg ik prachtig gefixeerde en gekleurde cellen met de agar-osmium-Giemsa-methode van Weidenreich, die ook door Schott bij zijn onderzoekingen over exsudaatcellen was gebruikt. Alleen was ik genoodzaakt den fixatie-tijd veel korter te nemen dan Weidenreich ²⁾ aangeeft.

Ik voerde deze methode als volgt uit:

In een Petri-schaal wordt een 1 % oplossing van agar in physiologische zoutoplossing uitgedoten tot een hoogte van 2 à 3 millimeter. Na stolling worden uit de aldus ontstane agar-plaat vierkantjes gesneden, die een flink stuk kleiner zijn dan een dekglasje van

¹⁾ Szécsi. Experimentelle Studien über Serosa-Exsudatzellen. Fol. Haematol. Bd. XIV, S. 1, 1912.

²⁾ Weidenreich l. c. (I), blz. 374.

gemiddelde grootte. Van deze stukjes wordt er telkens een opgelicht en overgebracht op een stukje glas.

Vervolgens wordt een aantal goed gereinigde dekglasjes gereed gezet. Nu brengt men op een dezer glasjes een zeer klein druppeltje van het exsudaatvocht en legt het daarna met de druppel naar beneden op een agarstukje. Het exsudaatdruppeltje spreidt zich nu gelijkmatig tusschen dekglas en agar uit.

Daarna wordt het geheel op een op $\pm 38^{\circ}$ C. verwarmd stoofje gezet en blijft daar gedurende ongeveer 2 minuten staan. Gedurende dezen tijd beginnen de leucocyten van het exsudaatvocht langs het dekglasje te kruipen.

In dit bedrijf worden deze nu door een plotselingen dood verrast en in hun amoëboïeden bewegingsstand gefixeerd, doordat men met behulp van een pipet een kleine hoeveelheid van een 1 % oplossing van acidum osmicum in aq. dest., waaraan men voor iederen kubieken centimeter een druppel acidum aceticum 30 % heeft toegevoegd, tusschen den over het agarstukje uitstekenden rand van het dekglasje en het de agar dragende glasje laat loopen. Na ± 40 seconden (Weidenreich geeft op 5 minuten; maar wanneer ik dat deed, kleurden de cellen zich niet goed meer met Giemsa) wordt het geheele complex in een bakje met water neergelegd, het dekglasje er voorzichtig afgelicht en met water afgespoeld.

Daarop wordt dit laatste zonder afdrogen in een bakje met verdunde Giemsa-oplossing (1 druppel op 1 ccm. aq. dest.) gelegd; na ± 45 minuten daaruit genomen en afgespoeld met water en achtereenvolgens gedroogd tusschen filtreerpapier en in de broedstoof.

Men monteert nu het glasje op een voorwerpglas en het praeparaat is klaar.

De praeparaten, die men aldus krijgt, kunnen wed-
ijveren met de mooiste, welke men bij het gewone
klinische bloedonderzoek ziet.

Een bezwaar is dat wanneer het exsudaatvocht maar
weinig cellen bevat, meestal alleen aan den rand van
dat deel van het dekglasje, dat het vierkante agar-
plaatje bedekte, zich leucocyten hebben vastgehecht,
terwijl in het midden geen of bijna geen cellen zijn
te vinden,

Het komt mij voor, dat dit niet hieraan ligt, dat de
in het midden liggende leucocyten niet voldoende
worden gefixeerd. Immers, wanneer een klein druppeltje
van een zeer veel cellen bevattend vocht op het dek-
glasje was gedaan, dan waren de in het midden
gelegen cellen dikwijls volkomen goed gefixeerd. Ook
ligt het niet daaraan, dat de cellen actief naar den
rand zijn gekropen om zuurstof te bemachtigen,
want wanneer men zorg draagt, dat er een klein
luchtbelletje onder het dekglas komt, ziet men niet
een kringetje van cellen om de plaats, waar dit ge-
legen heeft.

Waarschijnlijk is de oorzaak van dit euvel deze, dat,
zoowel door capillaire krachten als door den luchtdruk,
het dekglasje tegen het agarstukje wordt aangedrukt
en aldus de cellen naar den buitenkant worden geperst.
Pogingen om hieraan tegemoet te komen, door te maken
dat een dergelijke aandrukking tot op zekere hoogte
werd tegengehouden, gaven weer dit bezwaar, dat dan
het nu aanmerkelijk dikkere laagje tusschen dekglas
en agarplaatje, niet meer in voldoende mate door het
in de agar dringende osmiumzuur werd beïnvloed.

Een tweede nadeel van deze methode is, dat men
geen goed oordeel krijgt over de quantitatieve ver-
houdingen der verschillende celvormen. Ik heb echter

gemeend, waar het zeer grove verschillen betrof, in onder gelijke omstandigheden gemaakte praeparaten, wel eenig besluit daaruit te mogen trekken.

Wat mijn onderzoek betreft, kwam hierbij als derde bezwaar de omstandigheid, dat de bacteriën zich niet altijd goed aan het dekglas vasthechten, zoodat men die in deze praeparaten niet kan bestudeeren. Dit nadeel werd nog vergroot, door het gebruik van de Giemsa-kleurstof, waarmee het niet goed mogelijk was de gephagocyteerde vibrionen met zekerheid als zoodanig te herkennen.

Nu was het mij in dit onderzoek om de lotgevallen der bacteriën niet te doen. Wat er met de vibrionen in de buikholte van de cavia gebeurt, is reeds honderde malen nagegaan en kon ik dus als bekend aannemen. Alle onderzoekers hebben gevonden, dat, voor zooverre een accidenteele extracellulaire vibriolyse uitblijft, deze zoowel door de microphagen, als door de macrophagen worden opgenomen en dat zij over het algemeen in het lichaam der eersten sneller teekenen van verval vertoonen dan in dat der laatsten.

Mijn bedoeling was echter het lot der microphagen, en wel in het bijzonder der polynucleaire fijnkorrelige leucocyten na te gaan en daarvoor kon ik met de Giemsa-methode volstaan.

De teleurstellingen, die ik heb ondervonden door het gebruik van blijkbaar niet geheel neutrale canadabalsem als insluitmiddel, waren voor mij een reden mijn latere praeparaten op andere wijze in te sluiten.

Wanneer de canadabalsem n.l. maar een spoor zuur bevat, wat meestal het geval is, dan bederven de Giemsa-praeparaten, die er in worden bewaard, spoedig.

Giemsa¹⁾ heeft er nu op gewezen, dat paraffinum liquidum een zeer goed conserveer- en insluitmiddel is en dat met name Romanowsky-paeparaten daarin goed hun kleur behouden. Voor omranding raadt hij dekglasskit of was aan.

Harz²⁾ had reeds vroeger voor hetzelfde doel de physische eigenschappen van het paraffinum liquidum laten onderzoeken door Dr. K. Fisher, die tot de conclusie kwam, dat de hooge brekingsindex en het dispersievermogen ruimschoots het gebruik van deze vloeistof als insluitmiddel voor microscopische praeparaten wettigen.

Toen het mij gebleken was, dat al de Giemsa-paeparaten, die ik met canadabalsem had gemonteerd, bedierven, besloot ik voortaan paraffinum liquidum te gebruiken, liever dan nog eens een poging te wagen met den door Grüber in den handel gebrachten neutralen canadabalsem.

Eenige moeilijkheid gaf de omranding. Was voldeed mij niet, daar bij het gebruik van cederolie voor de immersielens deze dikwijls losweekte en nu eens het dekglas losraakte, dan weer een vuilgele massa er over werd uitgespreid, die ik met xylol moest verwijderen, een bewerking, waarbij ook weer licht de omrandingswas werd opgelost. Beter was ik tevreden over een mengsel van gelijke deelen paraffinum solidum en vaselinum album Chesebrough. Paraffine alleen is te bros, vandaar de bijmenging van vaseline. Dit mengsel is neutraal, zoodat geen zuren onder het dekglas kunnen diffundeeren als b.v. wanneer men canadabalsem als omrandingsstof gebruikt.

Verder gebruikte ik voor de immersielens in plaats

¹⁾ Giemsa. Centralbl. f. Bakt. Org. Bd. 70, S. 444.

²⁾ Harz. Zeitschr. f. wissensch. Mikroskopie. Bd. 20, S. 187.

van cederolie paraffinum liquidum als medium, wat het voordeel had, dat ik de dekglazen der praeparaten zonder veel poetsen schoon kon maken. Dit was physisch te meer verdedigbaar, omdat deze stof ook de cellen zelf omspoelde en in de practijk bleek, dat de optische beelden daarbij niets te wenschen overlieten.

Praeparaten van omentum en mesenterium werden op verschillende wijzen gemaakt. Soms deed ik dit door het omentum resp. mesenterium over een stukje agar uit te spannen, rondom af te knippen en er een dekglasje op te leggen om verder geheel op dezelfde manier als bij de exsudaatcellen het praeparaat met osmiumzuur te fixeeren en met Giemsa te kleuren. Andere keeren fixeerde ik met Flemming, door eenvoudig een stuk omentum of mesenterium daarin te dompelen; de Giemsa-kleuring liet dan echter dikwijls te wenschen over, omdat ik bevreesd was de gefixeerde sereuze vliezen door te veel spoelen te beschadigen.

Over het algemeen was ik over de praeparaten van het omentum en het mesenterium niet zoo voldaan als over de losse exsudaatcellen.

De milt werd als volgt behandeld:

Met een scherp mes werd het orgaan doorgesneden; daarop werd een druppeltje caviaserum met behulp van een pipetje op de snee vlakte gebracht en nu door voorzichtig op- en neerzuigen een emulsie van orgaancellen verkregen. Hiervan werden nu op de wijze, als voor de exsudaatcellen beschreven, praeparaten gemaakt.

Op overeenkomstige wijze werd ook het beenmerg behandeld. In den regel gebruikte ik het merg uit het borstbeen van de cavia; een enkele maal ook dat van het femur.

Aldus werden zoowel van milt als van beenmerg losse-cellen-praeparaten verkregen, waarin naast niet goedgeslaagde altijd zeer mooi gefixeerde en gekleurde cellen werden gevonden, die in staat waren over verschillende verschijnselen opheldering te geven.

Allereerst wil ik nu beginnen een beschrijving te geven van de cellen, die in het transsudaat van de peritoneaalholte van de normale cavia worden gevonden.

Zooals bekend bevat de peritoneaalholte van een gezond dier slechts een uiterst kleine hoeveelheid, bij de cavia niet meer dan een druppeltje vocht. In dit vocht treft men aan:

1. *Groote mononucleaire cellen.*

Deze cellen, die naar schatting van 5 tot 8 maal den diameter van een erythrocyt hebben, bestaan uit een groote blazige kern met een breeden protoplasmazoom er om heen. De kern vertoont duidelijk een fijn net van chromatinedraden met kernlichaampjes op de knooppunten ervan.

De vorm van de kern is zeer verschillend. Soms is zij rond of ovaal, dan weer ingedeukt of haltervormig, een een enkele maal zelfs drielobbig, zonder echter ooit in bouw overeen te komen met de graciele kernen van de z.g. polynucleaire leucocyten, waarvan zij zich steeds door haar plompheid en grootte onderscheidt.

Het protoplasma is sponsachtig van bouw en wel in dier voege, dat de grootte der mazen (vacuolen?) ervan van de kern naar den rand toeneemt.

Centrosomen zijn dikwijls waar te nemen.

De kleur van protoplasma en kern variceerde in mijn praeparaten sterk. Het protoplasma was meestal lichtblauw, soms met een roode bijtint. De kern had een

kleur, die wisselde van licht- tot donkerblauw, violet en purper en het kwam herhaaldelijk voor, met name bij sommige zeer groote sterk gelobde kernen, dat het eene deel van dezelfde kern blauw en het andere purper was. Wanneer men dergelijke beelden ziet, wordt men huiverig aan de kleuraffiniteit, om in de terminologie van onze naburen te spreken: „de chemisch-tinctorielle Beschaffenheit”, een groote waarde voor de indeeling der celtypen toe te kennen!

In de normale peritoneaalholte vindt men nu verscheidene van deze cellen, die erythrocyten hebben gefagocyteerd, soms zelfs meer dan een. Men ziet de erythrocyt als een groen of geel schijfje in het protoplasma van de groote cel liggen, veelal reeds in geschrompelden toestand en met een kring van donker-groen pigment er om heen. De aanwezigheid van ophooping van datzelfde pigment in andere gedeelten van het protoplasma, wijst er op, dat een dergelijke intracellulaire digestie ook reeds eerder heeft plaats gevonden. Deze cellen zijn dus exquisiete macrophagen.

Opvallend is dat het proces der intracellulaire digestie van de erythrocyten onder vorming van een groen pigment geheel overeenkomt met dat welke men in de macrophagen van de milt kan waarnemen.

Behalve de roode bloedlichaampjes en de overblijfselen daarvan, vertoonen deze cellen dikwijls nog andere insluitsels, waarvan de herkomst moeilijk is vast te stellen. Misschien zijn het resten van gefagocyteerde leucocyten of ook wel van bacteriën.

Sommige schrijvers hebben reeds in de normale buikholte cellen van deze groep in een toestand van mitose aangetroffen. Schott (l. c.) heeft een dergelijke cel uit de peritoneaalholte van het konijn afgebeeld

en Jolly¹⁾ nam ze waar bij den rat. Zelf heb ik bij normale cavia's geen zekere mitosen van deze cellen gevonden.

Ten slotte wil ik nog opmerken dat enkele overigens met de hier beschrevene geheel overeenkomende cellen niet een maar twee kernen vertoonen. Dit zijn dus groote binucleaire cellen.

De meeste schrijvers hebben deze mono- en bi-nucleaire cellen opgevat als afgestooten elementen van de serosa. Inderdaad komt de ovale vorm van de kern en de fijnere structuur daarvan volkomen met die der dek-endotheelcellen overeen. De meening, dat het degenereerende en tot ondergang gedoemde elementen zouden zijn is echter, zooals Weidenreich terecht opmerkt, geheel onjuist. Immers uit de hierboven gegeven beschrijving blijkt niet alleen, dat deze cellen bij goede techniek een fijne structuur van protoplasma en kern vertoonen, zonder eenig kenteeken van degeneratie, maar zelfs dat zij krachtige vitale functies verrichten in den vorm van macrophagocytose en mitotische deeling.

2. *Lymphocyten.*

Deze cellen komen overeen met die van bloed en lymphè. Zij hebben een ronde, ovale, soms wat ingedukte kern en een min of meer smallen protoplasma-zoom. De kernstructuur is niet zoo mooi gedifferentieerd als bij de groote cellen. Het protoplasma is gewoonlijk homogeen; bij de grootere vormen van deze cellen is het echter dikwijls meer sponsachtig van uiterlijk. In de normale buikholte vindt men in hoofdzaak kleine en middelgroote lymphocyten; de groote, die een over-

¹⁾ Jolly. Karyokinése des globules blancs dans la lympe péritonéale du rat. C. r. Soc. Biol. Ann. 52, p. 710; geciteerd naar Weidenreich.

gang vormen tot de cellen van de vorige groep, zijn daar zeer gering in aantal.

De kleur van het protoplasma wisselde in mijn Giemsa-praeparaten van lichtblauw tot donkerblauw; de kern had nu eens een blauwe kleur, dan weer was zij rose of purper. Daar deze variaties voorkomen in cellen, die overigens naar hun geheelen habitus overeenkomen, schijnt het mij niet geoorloofd hieruit essentiele verschillen af te leiden. Het is zeer wel mogelijk, dat het verschil in kleuraffiniteit van functioneele factoren afhankelijk is.

Aan de kleinste vormen van deze cellen zijn nooit phagocytose-verschijnselen waar te nemen, waarschijnlijk wel, omdat de protoplasmazoom hiertoe te smal is. Wanneer zij iets grooter worden, ja, men kan zeggen, zoodra de omvang van het protoplasma het toelaat, ziet men ze echter als phagocyten optreden. In cellen, die maar anderhalf maal zoo groot zijn als een rood bloedlichaampje, vindt men soms reeds een erythrocyt opgenomen, zoodat de heele cel ervan opzwellt en de kern naar den rand gedrongen wordt. De lymphocyten blijken dus, zoodra zij daartoe groot genoeg zijn, als macrophagen te kunnen optreden.

Gewoonlijk neemt men aan, dat deze lymphocyten in hoofdzaak afkomstig zijn van de lymphocyten-ophooping van het omentum.

Daar men, zooals gezegd, in de normale buikholte maar weinig groote lymphocyten vindt, die men zou kunnen opvatten als een overgang tot de groote eenkernige cellen van de vorige groep, is het niet waarschijnlijk, dat deze laatste normaliter in noemenswaardige mate uit de lymphocyten ontstaan. Bij ontstekingen vindt men echter vele van dergelijke overgangsvormen. Vandaar, dat, zooals ik vroeger reeds besprak, vele

schrijvers meenen, dat uit de lymphocyten groote macrophagen kunnen ontstaan, die volkomen met de losgeworden endotheelcellen overeenkomen.

Verscheidene lymphocyten in de buikholte van de cavia vertoonen eigenaardige insluitsels, die onder den naam van Kurloffschelichaampjes zijn beschreven. Zij doen zich voor als gele, min of meer ronde schijfjes, die dikwijls grooter zijn dan een rood bloedlichaampje. Deze laatste hebben in goede osmium-Giemspraeparaten eene groene kleur.

Wanneer deze door macrophagen gefagocyteerd waren, bleven zij in mijn praeparaten wel dikwijls hun groene kleur behouden, maar toch niet altijd. Soms werden ze n.l. geel en dan was het voor mij dikwijls moeilijk te zeggen, of ik met een gefagocyteerde erythrocyt, dan wel met een Kurloffslichaampje te doen had. In den regel besloot ik tot dit laatste, wanneer het schijfje grooter was dan een rood bloedlichaampje en ook wanneer het niet mooi rond was.

3. *Eosinophiele cellen.*

Cellen met echte eosinophiele korrels komen in de buikholte van de gezonde cavia meestal in groot aantal voor. Wanneer ik zeer jonge cavia's onderzocht van $2\frac{1}{2}$ —3 maanden, vond ik deze cellen nu eens in het geheel niet, dan weer slechts in zeer gering aantal. Of dit een algemeene regel is, of alleen bij de jonge dieren, die ik daarop onderzocht, toevallig het geval was, kan ik niet beoordeelen.

De eosinophiele cellen van de buikholte onderscheiden zich van die van het bloed door het groote aantal compactkernige mononucleaire vormen, die men aantreft. Soms vindt men ook wel gelobde kernen, maar deze zijn hoogstens twee-lobbig, dus lang niet zoo veelvuldig ingesnoerd als de kernen der z.g. polynu-

cleaire fijnkorrelige leucocyten. Daarentegen gaat de insnoering van de kernen dezer eosinophiele cellen dikwijls verder, zoodat werkelijk tweekernige cellen ontstaan.

Het groote aantal mononucleaire eosinophiele cellen is m. i. een krachtig argument voor de meening van Weidenreich, dat deze cellen ter plaatse zijn ontstaan. Aanstonds, bij de bespreking der ontstekingsverschijnselen, zal ik gelegenheid hebben een waarneming te vermelden, die de juistheid dezer opvatting bevestigt.

4. *Erythrocyten.*

Zooals reeds voor geruimen tijd door Ranvier is beschreven, vormen deze cellen een normaal bestanddeel van de transsudaten der sereuze holten. Dit wordt minder bewezen door het vinden van vrije erythrocyten in het vocht der buikholte, dan wel door het feit, dat men zoo veelvuldig in het lichaam der macrophagen van het transsudaat gefagocyteerde erythrocyten aantreft.

De z.g. polynucleaire fijnkorrelige leucocyten, de pseudoeosinophiele leucocyten der cavia, komen in de buikholte van het normale dier niet voor. Dit kon ik in overeenstemming o. a. met Weidenreich en Schott, herhaaldelijk constateeren. Waar Metchnikoff en zijn school de meening uitspreken, dat dit wel het geval is, moet dit berusten op het niet vermijden van minimale bloedingen bij het ontnemen van vocht aan de buikholte of op een onvoldoende techniek voor de fixatie en kleuring der transsudaatcellen.

Wat betreft het niet voorkomen dezer typische bloedcellen komen de sereuze holten overeen met het bindweefsel, waarin zij ook buiten het gebied der vaten in normale gevallen ontbreken.

Weidenreich heeft in dit feit een argument gezien om te betoogen, dat de eosinophile leucocyten van de buikholte geen bloedcellen kunnen zijn, maar als autochtone elementen moeten worden beschouwd.

Hoewel ik deze laatste opvatting, zooals gezegd, volkomen deel, meen ik toch dit argument te moeten verwerpen. Immers de erythrocyten van de buikholte moeten toch zeker als uit het bloed afkomstig worden gedacht en het niet aantreffen van alle vormen van bloedcellen kan dus nooit een reden zijn om te meenen, dat de wel aanwezige daar niet vandaan kunnen komen.

Bij de ontsteking op de vroeger beschreven wijze door inspuiting met een suspensie van *Vibrio Metchnikoff* veroorzaakt, ondergaat het cellenbeeld van de buikholte belangrijke veranderingen.

Wanneer men het dier doodt dadelijk (5 minuten) na de injectie van $\frac{1}{2}$ tot 1 ccm. der cultuur en men maakt een praeparaat van het vocht uit de buikholte met behulp van een agar-plaatje, dan vindt men geen enkele cel meer. Dit verschijnsel is door Metchnikoff ook waargenomen en door hem aanvankelijk toegeschreven aan een door de inspuiting veroorzaakte plotselinge vernietiging van de vrije cellen der buikholte, een „phagolyse”, waarbij deze cellen haar cytase aan de omgeving zouden afstaan. Toen Gruber en Durham ¹⁾ aantoonde, dat men de cellen in goeden staat op sereuze vliezen kon terug vinden, veranderde Metchnikoff zijn meening dier voege, dat de cellen slechts een functioneele beschadiging zouden onder vinden, waardoor zij als het ware verlamd op de sereuze vliezen werden neergeslagen en de cytase zouden loslaten, zonder anatomische laesies te ver-

¹⁾ Geciteerd naar Levaditi. Ann. Past. 1902, p. 241.

toonen. Hierbij zou men te doen hebben met een in den aanvang bestaande negatieve chemotaxis van die cellen, tegenover de ingespoten substantie.

M. i. behoeft men echter in het geheel niet zijn toevlucht te nemen tot een vitaal mechanisme als negatieve chemotaxis, om het niet vinden van cellen in het vocht der buikholte, dadelijk na de injectie van een microbencultuur te verklaren. Immers het is toch niet te verwachten, dat, wanneer ik in de peritoneaalholte van een cavia, die normaliter maar een druppel transsudaat, een taai eiwithoudend vocht, bevat, $\frac{1}{2}$ tot 1 ccm. van een of andere suspensie inspuut, deze zich na 5 minuten reeds daarmee zal hebben vermengd. Ik heb dus alle kans in het opgezogen vocht slechts vibrionen en geen leucocyten te vinden. Daarenboven, dat de aanvankelijk aanwezige cellen door de inspuiting niet ernstig beschadigd zijn, blijkt wel uit de praeparaten, die men eenigen tijd later van het exsudaat kan maken.

Wanneer men dit onderzoekt ongeveer drie kwartier na de inspuiting, dan vindt men in het praeparaat weer een groot aantal cellen, nog meer dan voor de injectie. In aanmerking nemende, dat de hoeveelheid vocht, in de buikholte en door de injectie en door de daarop volgende exsudaatvorming zeer is toegenomen, kan men met alle reserves, die de gebruikte methode vereischt, de gedachte toch niet onderdrukken, dat het aantal cellen in de buikholte belangrijk is vermeerderd. Merkwaardig genoeg zijn de celtypes, die men in dit stadium aantreft, nog precies dezelfde als die welke men in de normale buikholte vindt. Polynucleaire fijnkorrelige leucocyten komen op dit tijdstip van de ontsteking nog niet in het exsudaat voor. Dit wijst er op, dat de emigratie van cellen uit de bloedvaten nog niet is begonnen en dat vermeerdering van

het aantal der reeds aanwezige cellen moet berusten, hetzij op een vrijkomen dezer cellen uit de sereuze vliezen, hetzij op een voortplanting door celdeeling. Dat beide mogelijkheden inderdaad plaats vinden, blijkt uit het volgende.

In het exsudaat vond ik nu eens meer, dan weer minder groepen van mononucleaire cellen, die met protoplasmabrugjes samenhangen en geheel den indruk maakten van een syncytium van afgestooten endotheelcellen. Deze celgroepen waren duidelijk te onderscheiden van door agglutinatie ontstane conglomeraten van cellen. Sommige van de cellen van een dergelijk syncytium bleken gefagocyteerde cellen in haar protoplasma te hebben. Dit is dus al een reden om ze niet als afstervende elementen te beschouwen. Zeer merkwaardig was het feit, dat onder deze door middel van protoplasmabrugjes samenhangende mononucleaire cellen er nu en dan een werd gevonden met echte eosinophile korrels (zie de plaat). Wanneer ik mij in de verklaring van deze praeparaten niet heb bedrogen, bewijst dit wel, dat de eosinophile cellen van de buikholte ter plaatse kunnen ontstaan. Verder pleit deze waarneming ook voor de opvatting van Dominici c.s.: dat de cellen van de syncytia der sereuze vliezen tot vrije macrophagen kunnen worden.

Aan den anderen kant vond ik een enkele maal in dit stadium mitosefiguren in de vrije groote mononucleaire cellen, zoodat deze zich blijkbaar ook door mitose vermenigvuldigen.

Dat de vermeerdering van het aantal lymphocyten ten deele toe schrijven is aan emigratie van uit de lymphocyten-ophooping van het net is wel waarschijnlijk, maar ook hier speelt de mitose eene belangrijke rol. Ik vond n.l. verscheidene lymphocyten, die in

het kluwenstadium der mitotische deeling verkeerden. Misschien is de gebruikte methode, waarbij de cellen een paar minuten buiten het lichaam voortleven, voor zij gefixeerd worden, de oorzaak, dat ik de andere stadiën der deeling niet vinden kon.

De eosinophile cellen eindelijk, vertoonen verschijnselen van amitotische deeling. Het aantal cellen met twee of zelfs drie kernen is t. o. van dat met één kern toegenomen.

In dit stadium van de ontsteking ziet men reeds veel meer overgangen van groote lymphocyten tot macrophagen, zooals deze uit de syncytia der sereuze vliezen ontstaan, dan in de normale buikholte.

Verder treft men steeds hier en daar groote cellen aan, die kleine hebben gefagocyteerd. Ik vermoed, dat deze gefagocyteerde cellen lymphocyten zijn, die door de infectie zijn beschadigd.

Samenvattend blijkt dus, dat op dit tijdstip de peritoneaalholte een sterke reactie vertoont, die nu echter nog uitsluitend de cellen van die holte zelf en van de sereuze vliezen betreft, terwijl van een optreden van bloedcellen nog niets te bemerken is.

Waar de polynucleaire fijnkorrelige cellen, de typische bloedelementen nog geheel worden gemist, zou men in de terminologie van Metchnikoff moeten zeggen, dat het stadium der negatieve chemotaxis nog voortduurt.

Nu heeft, zooals bekend is, het begrip der chemotaxis in de biologie ingang gevonden sedert Pfeffer heeft aangetoond, dat verschillende chemische stoffen in vitro tegenover plantaardige organismen aantrekkende, (positief chemotactische) of afstootende (negatief chemotactische) werkingen ontvouwd. Reeds voor dien tijd had Leber getracht den trek van de leucocyten naar

den infectiehaard door de werking van in de lichaamsvochten opgeloste chemische substanties te verklaren.

Inderdaad is het nu door inspuiting van verschillende stoffen in het dierlijk lichaam gelukt reacties op te wekken, die als positieve chemotaxis konden worden geduid; zelfs slaagde men er in door injectie van bepaalde substanties bijzondere types van leucocyten op den voorgrond te doen treden. Dat verschillende bacteriën in staat waren stoffen voort te brengen, die een positief chemotactische werking tegenover leucocyten hadden, werd bewezen, door een glascapillair, gevuld met een bacterie-cultuur (b.v. een pyocyanescultuur) onder de huid van een proefdier te brengen. Na eenige uren was dan het buisje meer of minder ver met leucocyten gevuld. Massert en Bordet¹⁾ toonden nu aan, dat het binnendringen der leucocyten uitbleef, wanneer men aan de cultuur verdund melkzuur toevoegde en zij meenden hiermee een negatief chemotactische werking van deze stof tegenover de leucocyten te hebben bewezen. Zooals Löhlein²⁾ echter terecht opmerkt hadden zij slechts aangetoond, dat het melkzuur de positief chemotactische werking der cultuur ophief, niet dat het zelf afstootend werkte.

Dit geldt ook voor de stoffen van bacteriëlen oorsprong, die Bail aggressinen noemt; ook deze ontvouwen een werking, die neerkomt op het opheffen van een positief chemotactische werking. Dit behoeft daarom nog niet een afstootende te zijn.

Nog minder gerechtvaardigd is nu m. i. de uitdrukking negatieve chemotaxis voor de verschijnselen, die zich in het eerste stadium der ontsteking in de buikholte voordoen.

¹⁾ Geciteerd naar Löhlein.

²⁾ Löhlein. Die Gesetzen der Leukozytentätigkeit bei entzündlichen Prozessen. Jena, 1913.

Metchnikoff meent deze zoo te moeten opvatten, dat aanvankelijk de phagocyten en met name de microphagen door een negatief chemotactischen invloed van de bacteriën verwijderd worden gehouden. Eerst langzamerhand zouden de polynucleaire leucocyten den afstootenden factor van de bacteriënstoffen kunnen overwinnen en nu ten gevolge van de positief chemotactische invloeden der infectie naar den haard der ontsteking emigreeren.

Heel helder schijnt mij deze zienswijze niet en waar ik in mijn experimenten kon constateeren, dat het eerste stadium der ontsteking in de buikholte volstrekt niet een periode van inactiviteit der lichaamscellen is, maar integendeel de plaatselijke cellen der peritoneaalholte zeer actief op de infectie reageeren, meen ik de verschijnselen eenvoudiger op de volgende wijze te kunnen verklaren.

Bij den aanvang der infectie, als de bacteriën pas beginnen hun schadelijke werking uit te oefenen, worden allereerst de direct met hen in aanraking komende cellen en weefsels getroffen. Deze vangen den eersten stoot op en voor zooverre zij niet door dien slag vernietigd worden, reageeren zij uit alle macht.

Nu breidt de ontstekingsprikkel zich ook verder uit dan de oppervlakte der sereuze vliezen; de capillairen en het daar doorheen stroomende bloed nemen de toxinen der bacteriën op en eerst nu komt de meer verwijderde reactie tot stand, in aansluiting waaraan bloedcellen naar den infectiehaard emigreeren, in de eerste plaats polynucleaire fijnkorrelige leucocyten, de microphagen par excellence.

In de praeparaten, die $1\frac{1}{2}$ uur na de injectie der vibrionen van het exsudaat werden gemaakt, was deze

bloedreactie reeds duidelijk tot ontwikkeling gekomen. Van nu af traden de „locale” cellen, de groote en kleine mononucleairen en de eosinophile cellen meer en meer op den achtergrond en de polynucleaire fijnkorrelige elementen, die uit het bloed afkomstig waren, maakten spoedig het overwegende aantal van de exsudaatcellen uit. Of de eerstgenoemde celvormen niet alleen relatief maar ook absoluut verminderen is een vraag, die ik met mijn onderzoekingsmethode niet kon beantwoorden.

De in de buikholte binnengedrongen microphagen beginnen nu, zooals door de onderzoekers van het Institut Pasteur is aangetoond, de vibrionen te phagocyteeren en intracellulair te digereeren. Wel is waar kunnen ook de mononucleaire cellen deze bacteriën opnemen, maar zij doen dat in veel mindere mate.

Wat is nu het lot van de microphagen, die de vibrionen hebben opgevreten?

Onderzoekt men de praeparaten, die drie uur na de infectie van het exsudaat zijn gemaakt, dan blijkt dat vele, zoo niet het meerendeel van de polynucleaire fijnkorrelige cellen reeds teekenen van degeneratie vertoonen. Men ziet n.l. dat de deelstukken van de polymorphe kern zich volkomen van elkaar afsnoeren en veranderen in ronde kogeltjes, die ten getale van 5 tot 7 of meer vrij in het protoplasma liggen. Opvallend is ook, dat de meeste microphagen een zoo groot aantal kernstukken vertoonen, wat wel in den zin van Arneth als een involutieverschijnsel moet worden opgevat. Bij den hier genoemden degeneratievorm blijven de fijne korrels der polynucleaire leucocyten zichtbaar.

Een tweede vorm van degeneratie is die van het pycnotisch worden der kernen. Hierbij schijnen de kernstukken samen te vloeien tot een of meer dichte

chromatineklompen, soms ook tot een compact balletje met enkele lichtere er om heen. Het protoplasma schrompelt in en de korreling verdwijnt. Wel is waar vindt men nu en dan op deze wijze gedegenerende cellen vrij in het exsudaatvocht, maar voornamelijk wordt deze vorm gezien aan de microphagen, die in voedingsvacuolen van de macrophagen liggen. Het schijnt mij niet onwaarschijnlijk, dat deze vorm van degeneratie de voorzetting is van de vorige en dat zij onder invloed van de werking der macrophagen ontstaat. Mogelijk zijn die enkele ervan, welke men vrij in het exsudaatvocht vindt, secundair uit de voedingsvacuolen van de macrophagen losgeraakte elementen.

Nu en dan treft men nog een derden vorm van degeneratie: cellen met verbleekte kernen, waarvan de korreling nu eens goed behouden, dan weer onzichtbaar is geworden. De plaats, die deze vormen in het ondergangsproces der microphagen innemen, is mij niet duidelijk.

Losse als zoodanig herkenbare kernstukken van polynucleaire cellen vond ik maar uiterst zelden vrij in het exsudaatvocht.

Reeds nu, 3 uur na de infectie, ziet men enkele macrophagen, die polynucleaire leucocyten hebben opgevreten.

De vroeger beschreven samenhangende celgroepen, zijn thans uiteengevallen; alleen vindt men nog wel eens twee of drie door protoplasmabrugjes samenhangende cellen.

Ten slotte wil ik nog uitdrukkelijk opmerken, dat men naast de microphagen, die degeneratieverschijnselen vertoonen, er ook een groot aantal ziet, die geen enkel teeken daarvan laten zien. Ik stel mij voor, dat de nog gave cellen diegene zijn, welke het

laatst in de buikholte zijn binnengedrongen. Het beeld van de cellen van het exsudaat, zooals ik het heb geschetst, 3 uur na de injectie der vibriënen blijft nu geruimen tijd ongeveer hetzelfde. Eerst langzamerhand komt er merkbare verandering in en wanneer met het exsudaat na 24 uren onderzocht valt het verschil met dat van den vorigen dag bijzonder op.

Men ziet n.l. dadelijk dat het aantal mononucleaire cellen en wel voornamelijk groote macrophagen, waarvan men meestal niet meer kan zeggen of zij uit vaste serosacellen of uit lymphocyten zijn ontstaan, relatief belangrijk is toegenomen. Deze macrophagen vertoonen nu reeds dikwijls het verschijnsel der leucophagie: de te gronde gaande microphagen worden door hen opgevreten.

In het protoplasma van de macrophagen vindt men de polynucleaire leucocyten of de overblijfselen daarvan in een voedingsvacuole liggen. Laatgenoemde cellen ondergaan daarbij den boven beschreven pyknotischen degeneratievorm; de fijne pseudoeosinophile korreling, aanvankelijk nog zichtbaar, verdwijnt weldra. Wel is waar ziet men in het protoplasma van vele groote macrophagen roode korrels, die door sommige onderzoekers beschouwd zijn als afkomstig van gefagocyteerde en gedigereerde eosinophile of pseudoeosinophile cellen, maar dit schijnt mij toch een zeer twijfelachtige veronderstelling. De mogelijkheid, dat men hier met resten van gefagocyteerde bacteriën te doen heeft, moet zeker ook in het oog worden gehouden.

Maar zelden trof ik in mijn praeparaten het beginstadium der intraphagocytair leucocyten-digestie: een cel van het type der eerste degeneratievorm in een voedingsvacuole van een makrophag. Het komt mij voor, dat dit in de eerste plaats moet geweten worden

aan de groote snelheid van de intracellulaire digestie der geophagocyteerde leucocyten. Maar verder moet men in aanmerking nemen, dat in dit eerste stadium der leucophagie, de macrophagen hun prooi slechts met een uiterst graciël gebouwd en zeer waterrijk protoplasmarandje omringen, dat niet alleen bij het maken van het praeparaat door zijn groote teerheid licht kapot gaat, maar ook moeilijk zichtbaar te maken is.

Wanneer men leucocyten op de verwarmde object-tafel bestudeert, ziet men dikwijls zulke lichtgebouwde, uiterst doorschijnende protoplasma-uitloopers, dat men er aan wanhoopt deze ooit in het gekleurde praeparaat te kunnen vastleggen.

Behalve de macrophagen in de voedingsvacuolen, waarin men de opgevreten polynucleairen nog duidelijk als zoodanig kan herkennen, ziet men er zeer vele, die als overblijfsel van hun prooi nog slechts een pyknotisch kernballetje vertoonen. Dergelijke lichaampjes, die men terecht algemeen voor de resten van geophagocyteerde leucocyten houdt, zijn het eerst door Flemming in de macrophagen van de milt beschreven en naar hem genoemd geworden.

In dit tijdperk van de ontsteking, wordt de meerderheid der exsudaatcellen nog gevormd door de polynucleaire fijnkorrelige leucocyten. De meesten van hen vertoonen nu echter den eersten vorm van degeneratie, met name een sterke kernfragmentatie.

Nog een dag later, dus 2 maal 24 uren na de injectie der vibriënen, is er in het cellenbeeld van het exsudaat een groote verandering gekomen.

De groote macrophagen vormen nu de meerderheid der exsudaatcellen. De meesten bevatten in hun protoplasma microphagen in meer of minder ver gevorderden graad van degeneratie. Nog altijd zijn er vrije polynu-

cleairen, waaronder nog volkomen gave cellen. Een enkele maal, wanneer de infectie relatief zeer zwak geweest is, zijn de microphagen na 2 maal 24 uren reeds geheel uit de buikholte verdwenen; meestal is dit echter pas na eenige dagen het geval. Inderdaad verdwijnen deze cellen weer volkomen en vindt men na afloop van de infectie dezelfde elementen in de buikholte, die er voordien werden aangetroffen. Alleen schijnt relatief het aantal van de lymphocyten en de eosinophile cellen t. o. van de groote mononucleairen vermeerderd te zijn.

Gedurende het geheele verloop van het ontstekingsproces kan men eosinophile cellen in de buikholte vinden. Ik ben echter niet in staat over de beteekenis van deze cellen iets naders mee te deelen. Waarschijnlijk hebben ze voor de vernietiging der microben geen noemenswaard belang.

Samenvattend bleek dus uit mijn exsudaat-onderzoekingen:

1. Dat het eerste stadium der peritonitis er een van zuiver locale reactie is, waarbij nog geen cellen uit de bloedvaten emigreeren.
2. Dat (in mijn proeven ongeveer na een uur) daarop volgt een reactie van de bloedcellen, welke zich uit door het emigreeren in grooten getale van polynucleaire fijnkorrelige leucocyten ¹⁾ uit de vaten.
3. Dat deze laatsten cellen, die als microphagen optreden, voor het overgrootste deel althans, degenerereeren.
4. Dat de degenererende microphagen door de macrophagen van de buikholte worden opgevreten.

¹⁾ Dat ook lymphocyten uit de bloedvaten kunnen emigreeren wil ik hiermee volstrekt niet ontkennen. Hun optreden buiten de bloedvaten kan echter nooit als een bewijs voor het bestaan van een dergelijke emigratie worden beschouwd, tenzij een andere herkomst voor deze cellen is uitgesloten. Dit laatste was echter in de buikholte bij mijn experimenten geenszins het geval.

5. Dat de polynucleaire fijnkorrelige leucocyten ten slotte weer geheel uit de buikholte verdwijnen.

De praeparaten, die ik van omentum en mesenterium maakte, vertoonden niet zulke mooie celbeelden, als die van de exsudaten. Aan datgene, wat ik reeds vroeger over de sereuze vliezen heb gezegd, wil ik hier slechts toevoegen, dat ik kon vaststellen, in overeenstemming o. a. met Ranvier, dat de vaste cellen daarvan ook aan de leucophagie deelnemen, al was dit ook in veel mindere mate dan bij de vrije macrophagen van het exsudaat het geval. Verder kon ik de waarneming van andere onderzoekers bevestigen, dat de fijnkorrelige polynucleaire leucocyten na afloop der ontsteking weer geheel uit het extravasculaire gebied verdwenen.

In de praeparaten, die ik op de vroeger beschreven wijze van de milt van gezonde, door verbloeding gedooide cavia's maakte, vond ik dat de overgrootste meerderheid der cellen gevormd werd door mononucleaire elementen van kleine lymphocyten af tot groote mononucleaire cellen toe. Polynucleaire fijnkorrelige cellen werden maar uiterst zelden gevonden. Eosinophiele cellen waren in vrij groot aantal aanwezig.

Ook cellen met basophiele korrels werden aangetroffen; dit waren cellen met grove dikke korrels ongeveer van de grootte der eosinophiele korrels; ook naar den vorm hadden deze veel overeenkomst met de eosinophiele cellen, zoodat ik in twijfel ben of ik hier niet door bijzondere omstandigheden veranderde eosinophiele cellen te doen had. Zeker kwamen deze cellen niet overeen met de Mastzellen van Ehrlich. Ik heb mij echter niet verder met deze vraag beziggehouden.

Van belang voor mijn onderwerp is, dat ik kon vaststellen, dat de mononucleaire cellen van de middel-groote vormen af tot aan de allergrootste toe als macrophagen werkzaam waren. Zeer dikwijls vond ik dergelijke cellen, die een of meer erythrocyten hadden gefhagocyteerd en wel nam ik hier dezelfde verschijnselen van intracellulaire digestie waar, die ik vroeger voor de macrophagen van het normale transsudaat der buikholte heb beschreven. Blijkbaar wordt een deel van het bij de vertering der erythrocyten gevormde diepgroene pigment weer door de macrophagen uitgestooten, want ik vond dit behalve intracellulair ook in hoopjes extracellulair.

Ook vond ik, dat, zooals trouwens reeds dikwijls beschreven is, reeds in de normale milt geregeld leucophagie plaats heeft. Zoo zag ik macrophagen, die in een voedingsvacuole een nog duidelijk als zoodanig herkenbare polynucleaire leucocyt hadden opgevreten alsook zulke, welke resten daarvan in den vorm van Flemmingsche lichaampjes vertoonden.

Opvallend was, dat de groote macrophagen, die men moet opvatten als ontstaan, hetzij door groei uit de lymphocyten, hetzij door vrij worden van vaste endotheel- of steuncellen, geheel overeenkwamen met de groote mononucleaire cellen, die ik in de peritoneaalholte had gevonden.

Gedurende het bestaan van de experimenteele vibrionenperitonitis nam nu het aantal van de in de miltpraeparaten gevonden polynucleaire fijnkorrelige cellen sterk toe. Van deze gingen de meesten weldra degenerereen en werden door de macrophagen gefhagocyteerd.

Dit is in overeenstemming met het reeds lang bekende feit, dat bij infectieziekten een groot aantal

polynucleaire leucocyten door de macrophagen van de milt worden opgevreten ¹⁾).

Het vermoeden ligt voor de hand, dat deze aldus te gronde gaande cellen microphagen zijn, die bacteriën hebben gefagocyteerd, naar analogie van de verschijnselen, die in den ontstekingshaard zelf worden waargenomen.

Inderdaad vond Helly ²⁾ in de milt van intraveneus met miltvuurbacillen ingespoten konijnen deze bacillen terug te midden van conglomeraten van degenereerende polynucleaire leucocyten.

In mijn onderzoek was ik niet in staat de vibrionen in het protoplasma van de afstervende microphagen te herkennen. Al ontbreekt mij dus de zekerheid, zoo waag ik het toch te veronderstellen, dat de bij de experimenteele vibrionenperitonitis in de milt te gronde gaande microphagen, tevoren vibrionen hadden gefagocyteerd.

Moet men zich nu voorstellen, dat deze cellen de vibrionen in de buikholte van het dier hadden opgenomen en daarop langs lymph- en bloedwegen naar de milt waren verhuisd?

Niets belet iets dergelijks aan te nemen, maar stellig is dit toch niet voor alle cellen het geval.

Buxton ³⁾ heeft n.l. aangetoond, dat na injectie van bacteriën (typhusbacillen) in de peritoneaalholte, deze binnen weinige minuten in het bloed komen, en dat de lymfwegen van het diaphragma en het mediastinum anterieus hierin een groote rol vervullen.

Schott ⁴⁾ vond, dat allerlei partikeltjes vanuit de

¹⁾ Cornil et Ranvier. Manuel d'Hist. path. T. III.

²⁾ Helly l. c.

³⁾ Buxton. Absorption from the peritoneal cavity. Journal of medical research. Vol. XVI, 1907, 25.

⁴⁾ Schott l. c. blz. 208.

buikholte ook langs den ductus thoracicus de bloedbaan kunnen bereiken. Kortom, wanneer men in de peritoneaalholte een suspensie van bacteriën inspuit, komen deze bijna oogenblikkelijk in het bloed en buiten de háard van infectie is dus voor de polynucleaire leucocyten nog gelegenheid genoeg om bacteriën op te vreten. Dat de macrophagen der lymfklieren en andere organen in de uitoefening van de bacteriënphagocytosen niet bij de microphagen achterblijven, is echter, o. a. uit de experimenten van Buxton wel duidelijk.

In de beenmergpraeparaten zijn natuurlijk reeds normaliter vele polynucleaire fijnkorrige leucocyten te vinden, zoodat een vermeerdering van het aantal bij een infectie, wanneer deze niet heel groot is, niet gemakkelijk is vast te stellen. Nu experimenteerde ik met een infectie in de buikholte, die in de eerste plaats daar, veel minder in de milt en in nog mindere mate in het beenmerg haar invloed deed gelden. Zoo kon ik dan ook niet constateeren, dat de verschijnselen van leucophagie, die ik reeds in het normale beenmerg aantrof, bij de ontsteking meer uitgebreid voorkwamen.

Van groot belang is de vraag, wat er van de macrophagen wordt, die de leucophagie hebben uitgeoefend.

Uit mijn eigen onderzoekingen beschik ik niet over voldoende gegevens om deze vraag te beantwoorden. Wel kan ik verklaren, dat ik zekere degeneratievormen niet of uiterst zelden bij het ontstekingsproces, noch in de buikholte, noch in de milt, heb aangetroffen.

Ook Weidenreich wijst er op, dat de mononucleaire cellen zelden teekenen van degeneratie vertoonen.

Bij etterige ontstekingen zag Maximow wel een groot deel van de betrokken polyblasten te gronde gaan, maar dit was toch niet met alle het geval.

Dat de macrophagen door het uitoefenen der leucophagie niets van hun levenskracht inboeten, bewijzen wel de onderzoekingen van Schott en Weidenreich, die na afloop van dit proces talrijke mitosen aan deze cellen konden waarnemen.

Ik zelf heb maar weinig dieren in die periode onderzocht en vond zelden mitose-figuren.

Dominici was gelukkiger; hij beeldt zelfs een cel af, die, terwijl zij nog bezig is een leucocyt te digereeren, in mitose verkeert ¹⁾.

Het is dus wel waarschijnlijk, dat deze cellen voor een groot deel althans blijven leven.

Waar gaan zij nu echter heen?

Voor een deel gaan zij langs de lymphbanen van het peritoneum naar de bloedbaan en kunnen zij aldus in allerlei organen komen ²⁾.

Voor een ander deel, misschien wel voor het grootste, moet men aannemen, dat zij weer sessiel worden.

Dominici heeft dit voor het net, Maximow voor het bindweefsel waarschijnlijk gemaakt.

Men moet de macrophagen dus opvatten als cellen, die, wanneer zij sessiel zijn, niet alleen mobiel kunnen worden, maar ook omgekeerd, van een mobielen in sessielen toestand kunnen overgaan.

Wat de macrophagen van het peritoneaalexudaat betreft, ligt het vermoeden voor de hand, dat de meeste van hen weer sessiel worden in het net, het orgaan, waaruit zij ook in hoofdzaak afkomstig waren.

¹⁾ Dominici. l. c. Pl. II, fig. 3', 2.

²⁾ Schott l. c. blz. 208.

VII.

Uit mijn onderzoekingen over de experimenteele peritonitis bij de *cavia cobaya* veroorzaakt door den *Vibrio Metchnikoff* en uit de waarnemingen van verschillende schrijvers bij de ontstekingen door andere bacteriën en en ten deele bij andere proefdieren verwekt, kan men het volgende besluiten.

De bij een bacterieele infectie optredende microphagen gaan voor het overgrootste deel te gronde doordat de reeds buiten de phagocyten in meerdere of mindere mate gedegenerende leucocyten door macrophagen worden opgenomen en gedigereerd.

Dit werd o.a. aangetoond door Dominici voor de infectie van konijnen met typhusbacillen, door Helly voor de infectie van dezelfde dieren met miltvuurbacillen, staphylococcen, streptococcen, typhus- en coli-bacillen, choleravibrionen, diphterie-, pneumonie- en tuberkelbacillen; door Maximow voor de infectie van konijnen, ratten, honden en katten met *staphylococcus pyogenes*.

De vroegere onderzoekingen van het Institut Pasteur spreken in dezelfde richting.

Dat ook bij aseptische ontstekingen de polynucleaire fijnkorrelige leucocyten op deze wijze ten onder gaan, volgt uit de onderzoekingen van Maximow over de ontstekingen door vreemde lichamen veroorzaakt bij konijnen, honden en duiven en uit die van Weidenreich en Schott over de peritonitis, die bij de *cavia* na intraperitoneale injectie van vermillioen of van erythrocyten ontstaat.

Uit dit alles blijkt dat de microphagen bij allerlei

ontstekingen weer geheel van het tooneel van den strijd verdwijnen en dat dit in hoofdzaak geschiedt door het proces der leucophagie.

In het 5de hoofdstuk heb ik reeds aangetoond, dat de microphagen, die mogelijk nog ongedeerd uit den infectiehaard ontsnappen, niet, zooals Metchnikoff dat wil, als de dragers van een eventueel verworven immuniteit en als de voortbrengers van de antistoffen kunnen worden beschouwd.

Maar ook om de volgende reden kan men aan deze cellen een dergelijke beteekenis niet toekennen.

Zooals ik n.l. reeds vroeger heb gezegd, moeten de polynucleaire fijnkorrelige leucocyten worden beschouwd als steriele elementen, d. w. z. zij zijn niet in staat zich door mitotische deeling te vermenigvuldigen. Wel kunnen zij onder ongunstige omstandigheden amitotische deeling vertoonen, maar het is wel zeker, dat dit als een degeneratieverschijnsel moet worden opgevat.

Nu is het algemeen bekend, dat de immuniteit, die een dier na het doorstaan van een infectieziekte verwerft, dikwijls van zeer langen duur kan zijn. Ja, wanneer een proefdier jaren na een eerste infectie weer wordt geïnfecteerd en opnieuw ziek wordt, dan vertoont het organisme toch in zooverre den invloed der vorige infectie, dat de ziekte in den regel lichter en sneller verloopt en bovendien opnieuw, maar veel vlugger dan de eerste maal immuniteitseigenschappen worden ontwikkeld.

Men kan veilig zeggen, dat na het doorstaan van een infectieziekte een dier dikwijls gedurende tientallen van jaren een „allergische” reactie op een eventuele nieuwe infectie kan vertoonen.

Een dergelijke eigenschap, vooral wat betreft het in sneller tempo opnieuw vormen van immunisa-

torische functies, toe te schrijven aan de aanwezigheid van enkele cellen, die door hun steriliteit tot uitsterven gedoemd zijn, is niet aannemelijk.

Geheel anders is dit voor de macrophagen, die de leucophagie der bij de immuniseerende infectie opgetreden microphagen hebben uitgeoefend.

Ten eerste komen deze cellen, die of direct de microben opvreten, of de microphagen in het protoplasma waarvan bacteriën worden gedigereerd, in nauw contact met het antigeen. Zij moeten reeds van huis uit in staat zijn bacteriën te vernietigen, getuige het te gronde gaan van door hen gefagocyteerde microorganismen en daar deze cellen na afloop van de infectieziekte voor het meerendeel in leven blijven, is het vermoeden gerechtvaardigd, dat zij een rol spelen in het tot stand komen der immuniteit.

Ten tweede komen de plaatsen waar men deze cellen in het dierlijk lichaam aantreft, overeen met die, van welke men weet, dat daar de z.g. antistoffen worden gevormd. Reeds besprak ik in dit verband, hoe bij een injectie van een vaccin in een sereuze holte die stoffen het eerst in diezelfde holte worden gevormd en hoe na een intraveneuze injectie de milt, het „organe macrophagique par excellence” als voornaamste plaats der antilichamen-productie moet worden beschouwd. Men kan dus zeggen, dat de immuniteits-eigenschappen daar ontstaan, waar de macrophagen, hetzij direct, hetzij indirect door middel van de leucophagie het bacterieele antigeen hebben gefagocyteerd.

Begrijpelijk is dan ook, dat Pfeiffer en Marx en Detre Deutsch de productie der antilichamen niet verminderd vonden, wanneer zij miltlooze dieren vaccineerden. Inderdaad kunnen de andere macrophagen-organen, het beenmerg en de lymfoïede organen

zeer wel de functie van de milt overnemen. Het is echter gemakkelijk in te zien, dat de hoeveelheid der antilichamen wel moest verminderen, wanneer Detre Deutsch 3 tot 5 dagen na de injectie der bacillen de dieren ontmiltte. Immers, nu werden een groote menigte macrophagen, die bacterio- en leucophagie hadden uitgeoefend en bezig waren hun immunisatorische eigenschappen te ontwikkelen, uit het lichaam verwijderd.

Ten derde voldoen de macrophagen aan deze voorwaarde, die noodig is om de dragers te kunnen zijn van eigenschappen, die jaren lang blijft bestaan, dat zij niet steriele elementen zijn, maar integendeel zich door mitotische deeling kunnen voortplanten. Het ligt geheel in de lijn van de moderne biologische gedachten dat een moedercel verworven eigenschappen op de uit haar door mitose ontstane dochtercellen kan overdragen.

Zoo zullen dus de door een aantal macrophagen verworven nieuwe eigenschappen zich in het geheele nageslacht van die cellen kunnen voortzetten.

Ten slotte wil ik er nog op wijzen, dat de macrophagen met het opvreten der degenereerende polynucleairen slechts een normaliter, ook buiten ontstekingen, aan hen toegewezen functie vervullen. Het ligt voor de hand, dat de integriteit van de macrophagen zeer wordt bevorderd door de omstandigheid, dat zij niet direct de giftige bacteriën opvreten, maar eerst dan, wanneer zij door het protoplasma van een microphag zijn omringd en van hun eerste schadelijkheid zijn ontdaan. Een nuttige factor voor het organisme ligt dus uit dien hoofde zeker in de dubbele phagocytose besloten.

Welke andere voordeelen het aanvankelijke optreden van de microphagen voor het geïnfecteerde dier nog heeft, wil ik hier ter zijde laten.

Zeker is het m. i., dat het meer of mindere sterke bactericide vermogen van de macrophagen in het algemeen den doorslag geeft voor de vraag of het zieke dier al dan niet zal genezen.

Immers het moge waar zijn, dat vele bacteriën reeds in het protoplasma der microphagen afsterven, dit zou voor het organisme niet veel beteekenen, als de bacillen die door de macrophagen waren opgenomen, bleven leven en zich vermenigvuldigen konden, want nooit wordt een macrophaag door een microphaag gefagocyteerd. Omgekeerd kan het dierlijk lichaam in den strijd tegen de bacteriën nog wel degelijk overwinnen, wanneer de microphagen de door hen opgenomen bacteriën niet kunnen dooden, en de macrophagen daartoe wel in staat zijn. De microphagen kunnen dan met hun inhoud van levende bacillen door de macrophagen worden opgenomen om vervolgens tezamen met hun prooi te worden vernietigd.

Dat de macrophagen bij de genezing van infectieziekten een belangrijke rol vervullen, blijkt reeds uit andere onderzoekingen van Metchnikoff¹⁾. Voor het genezingsproces bij de erysipelas zegt deze schrijver: „In denjenigen. Teilen der Haut, wo das Erysipel zur Ausheilung kommt, ist dagegen die Menge freier Kokken sehr gering, während diejenige der in den Phagozyten eingeschlossenen sehr bedeutend ist. Es ist auffallend, dass unter diesen Zellen grosse einkernige Makrophagen eine ganz hervorragende Rolle spielen.”

Ook bij een geval van perforatieperitonitis bij den mensch kon Metchnikoff²⁾ aantoonen, dat de genezing tot stand kwam, doordat ten slotte de bacteriën

¹⁾ Metchnikoff in Kolle u. Wasserm. Bd. II, blz. 722.

²⁾ l. c. blz. 723.

door macrophagen werden opgenomen. Men moet zich dit zoo voorstellen, dat aanvankelijk talrijke microphagen waren opgetreden, die echter de infectie niet konden overwinnen. Daarop kwamen de macrophagen, die èn bacteriën èn microphagen in zich opnamen en deden verdwijnen. Dit is dus volkomen in overeenstemming met wat wij bij de experimenteele peritonitis van de cavia hebben gezien.

In dit verband komt de beteekenis van de door de chirurgen toegepaste methode om darmnaden met serosa te overhechten, in een nieuw licht. Hierin alleen een mechanisch volmaakte afsluiting te zien of wel een middel om door de opvolgende verklevingen een dergelijke absolute barrière te doen ontstaan, is m. i. niet juist. Immers de bacteriën zouden dergelijke verklevingen wel kunnen doorwoekeren, indien zij alleen een passieve hinderpaal vormden. Het groote belang van de bedoelde methode ligt echter hierin, dat de operateur een groote menigte slagvaardige macrophagen naar het bedreigde front brengt. Ook hier is, evenals in den modernen oorlog, een levende slaglinie in staat een vijand te weerstaan, dien een passieve wal nooit zou kunnen tegenhouden.

Dat de milt bij allerlei infectieziekten een belangrijke rol vervult, is een uit kliniek en pathologische anatomie bekend feit, evenzoo dat de macrophagen van dat orgaan daarbij op uitgebreide schaal bacterio- en leucophagie uitoefenen. Het zijn de met deze reactie gepaard gaande proliferatie der mononucleaire cellen en de ophooping in de milt van microphagen, die voornamelijk de zwelling van dit orgaan bij de infectieziekten veroorzaken. Hoe belangrijk de actie der miltmacrophagen voor de genezing der infectieziekte is uit de voorafgaande be-

schouwingen duidelijk. Bovendien zijn het in de eerste plaats deze macrophagen, die in geval van overwinning voor het tot stand komen van een immuniteit van belang zijn.

Wat de miltzwelling is bij een algemeene infectie, dat is de lymphklierzwelling bij een regionale. Ook hier is een macrophagenorgaan in het spel, dat naar alle waarschijnlijkheid op overeenkomstige wijze als de milt dit doet voor een infectie, die de bloedbaan heeft bereikt, de langs de toevoerende lymphwegen komende bacteriën bestrijdt.

Samenvattend kom ik dus tot de volgende hypothese aangaande de beteekenis der macrophagen voor de genezing van infectieziekten en de daartegenover verworven immuniteit.

1. *De macrophagen moeten in laatste instantie de genezing van het geïnfecteerde dier door hun bactericide werking verzekeren.*
2. *Het zijn deze cellen, die als de dragers van een na doorstaan eener ziekte verworven immuniteit moeten worden beschouwd.*

Wanneer ik meen, dat de macrophagen, die de bacteriophagie en de leucophagie der geïnfecteerde microphagen hebben uitgeoefend, dientengevolge nieuwe eigenschappen kunnen verwerven, dan wil ik daarmee nog niet zeggen, dat zij dit altijd zullen doen. Hierin speelt zoowel de aard van het pathogene micro-organisme, als de diersoort, waartoe de macrophagen behooren, een belangrijke rol.

Voor sommige gevallen is ook de mogelijkheid denkbaar, dat de microphagen de door hen gefagocyteerde bacteriën reeds zoover hebben afgebroken, dat zij tegenover

de macrophagen, die ze door middel van de leucophagie opnemen, geen antigene eigenschappen meer hebben. In dit geval is het voor het dierlijk lichaam trouwens overbodig nog nieuwe verweermiddelen tegen het betrokken microorganisme te organiseeren. Een andere maal zal daardoor geen immuniteit ontstaan, doordat de meeste macrophagen, die bacteriophagie of leucophagie van geïnfecteerde microphagen hebben uitgeoefend te gronde zijn gegaan.

Hier wil ik nog even terugkomen op de vroeger besproken onderzoeken van Salimbéni. Ik heb gezegd, dat deze proefnemingen niet bewezen hebben, dat de polynucleaire fijnkorrelige leucocyten, de microphagen, bij een geïmmuniseerd dier beter in staat zijn de betrokken bacteriën te doden en nog minder dat hier van een specifiek verhoogd weerstandsvermogen sprake zou zijn.

De vraag mag nu gesteld worden of iets dergelijks in het kader van de zoo juist door mij ontwikkelde beschouwingen mogelijk is.

Ik meen hierop een bevestigend antwoord te moeten geven. Immers, het is waarschijnlijk, dat de moeder-cellen van de fijnkorrelige elementen, men moge ze nu myeloblasten of lymphocyten noemen, macrophagen zijn. Dit heb ik reeds in het tweede hoofdstuk opgemerkt.

Indien dat zoo is, dan is het ook denkbaar, dat de door leuco- of bacteriophagie door deze cellen nieuw-verworven eigenschappen op hun nakomelingschap, de microphagen kunnen overgaan.

Schridde¹⁾ heeft de theorie opgesteld, dat het feit,

¹⁾ Schridde. Studien und Fragen zur Entzündungslehre. Jena, 1910. Geciteerd naar Löhlein l. c. die er ook de aandacht op vestigt, dat Pappenheim (Fol. haematol. XI, 2 Teil) de prioriteit opeischt voor deze „Erkenntnis“.

dat bij een bacterieele infectie in het algemeen eerst polynucleaire gekorrelde cellen optreden en daarna als de ontsteking chronisch wordt lymphocyten hun plaats innemen, aldus verklaard moet worden, dat de bacteriën eerst leucotactische en daarna lymphotactische stoffen produceeren.

Nu is een dergelijke opvatting alleen daarom reeds onhoudbaar, omdat hetzelfde verschijnsel waargenomen wordt bij ontstekingen, die door steriele, geheel indifferente vreemde lichamen worden veroorzaakt.

Bovendien is deze gekunstelde hypothese onnoodig, omdat het te gronde gaan van de ontstekings-microphagen reeds voldoende het optreden van macrophagen, lymphoïede cellen dus, verklaart. Immers het is de normale functie van de macrophagen versleten cellen van het eigen organisme te phagocyteeren. Wil men hier een chemotaxis aannemen, dan moet men een dergelijke invloed aan de dissimilatieproducten van de degenererende cellen van het eigen lichaam toeschrijven.

Uit de vroeger geciteerde onderzoeken van Metchnikoff, Borrel en Dembinsky over de experimenteele tubercelbacillen-injectie bleek verder hoe men ook voor deze microörganismen niet zeggen mag, dat zij zich onderscheiden door lymphotactische eigenschappen in tegenstelling met de meeste andere bacteriën, die meer leucotactische eigenschappen zouden hebben. Ook hier treden aanvankelijk microphagen op, die zoo mogelijk de bacillen phagocyteeren, maar zij gaan snel te gronde, en worden dan door de macrophagen, de lymphoïede cellen opgenomen of althans omsloten. Een principieele afwijking van den algemeenen regel is hier dus niet. Hetzelfde geldt vermoedelijk voor andere dergelijke infecties, als b.v. die met de leprabacillen of met de *spirochaeta pallida*.

Metchnikoff heeft het vrij komen van de bacteriolytische cytase in de buikholte van de cavia bij de proef van Pfeiffer hieraan toegeschreven, dat de microphagen, die reeds tevoren in de buikholte waren, door „phagolyse” hun cytase afgeven.

Nu komen polynucleaire fijnkorrelige cellen in de normale buikholte, in afwijking van de meening van Metchnikoff, niet voor, en de eenige microphagen, die men aantreft, zijn de eosinophile cellen en deze staan m. i. eigenlijk nog dichter bij de macrophagen, dan bij de microphagen, want het zijn voor een groot deel eenkernige vormen.

In ieder geval zouden, wanneer de vrijgekomen cytase van de microphagen afkomstig moet zijn, alleen deze cellen daarvoor in aanmerking komen.

Nu vond ik bij zeer jonge cavia's geen of bijna geen eosinophile cellen in de buikholte en toch gelukt de proef van Pfeiffer bij dergelijke dieren zeer goed.

Bovendien kan men, waar deze cellen wel gevonden worden, van een laesie dezer elementen niets waarnemen. In mijn experimenten met den *Vibrio* Metchnikoff was van een beschadiging der tevoren aanwezige cellen niet alleen niets te bemerken, maar zij vertoonden binnen korten tijd na de injectie zelfs een zeer verhoogde activiteit.

Ik kan mij daarom niet vereenigen met de opvatting dat het vrijkomen van de bacteriolytische cytase te wijten is aan een laesie der microphagen.

De veronderstelling schijnt mij daarentegen gerechtvaardigd, dat de macrophagen der buikholte hiervoor verantwoordelijk zijn en wel in dier voege, dat zij niet door een passieve laesie, maar door een actief reactieproces, opgewekt door het plotselinge inspuiten der bacteriën, de cytase uitscheiden.

Het wordt door deze hypothese meteen begrijpelijk, hoe men door het verwekken van een dik polynucleair exsudaat, een exsudaat dus, waarin relatief maar heel weinig mononucleaire cellen voorkomen, de extracellulaire bacteriolyse bij het inspuiten van vibrionen kan voorkomen.

In deze gedachtengang verliest voor mij het fundamenteele verschil, dat Metchnikoff heeft willen maken, in afwijking met Bordet, tusschen een bacteriolytische microcytase en een dierlijke cellen oplossende macrocytase, haar waarde.

Het zou mij te ver voeren de argumenten, die Metchnikoff voor een dergelijke onderscheiding heeft aangevoerd, hier te bespreken. Alleen wil ik verklaren, dat zij mij niet steekhoudend schijnen te zijn.

Ten slotte wil ik opmerken, dat de voor de kliniek zoo belangrijk geworden complementbindingsmethode feitelijk op de eenheid der cytasen berust. Hier gaat de practijk dus mede met Bordet en laat de bezwaren van Metchnikoff, die twee, en van Ehrlich en Morgenroth, die verscheidene cytasen willen aannemen, terzijde.

De ontwikkeling van ons inzicht in de verweerkrachten van het dierlijk organisme tegenover bacterieele infectie, zal in groote mate afhankelijk zijn van onze kennis van de physiologie der macrophagen.

Nu weten wij over de levensvoorwaarden van deze cellen weinig meer dan de biologie ons over het leven van de dierlijke cel in het algemeen heeft geleerd.

Hoe reeds een gebruik maken van dit weinige weten ons nieuwe gezichtspunten kan verschaffen, wil ik trachten in de volgende bladzijden aan te toonen.

Alle dierlijke cellen hebben om te leven behoefte aan zuurstof.

Ehrlich ¹⁾ heeft echter duidelijk gemaakt, dat de cellen van ons lichaam zich geenszins in een overvloed van zuurstof baden, maar dat integendeel de zuurstofspanning in de weefsels op eenigen afstand van de capillaire respiratievlakten slechts een buitengewoon geringe kan zijn. Immers het blijkt, dat het protoplasma der weefselcellen een zoo grooten zuurstofhonger heeft, dat het in staat is kleurstoffen als indophenylblauw en in vele gevallen zelfs alizarineblauw tot hun leukoprodukten te reduceeren, hetgeen thermochemisch een buitengewoon groote energetische praestatie beteekent. Men is daarom gedwongen aan te nemen, dat in het protoplasma de zuurstofspanning gelijk aan nul is. Ieder spoor van zuurstof n.l. dat hier vrij zou zijn, zou onmiddellijk gebonden moeten worden.

Dit geldt alleen voor het protoplasma *sensu strictiori*, het eigenlijke vitale deel van de cel, het z.g. „reuzemolekuul” van Pflüger; in het de mazen van het dit levende sponswerk omspoelende levenlooze paraplasm, zal wel eenige zuurstofspanning moeten heerschen. Men moet zich n.l. voorstellen dat van de capillaire respiratievlakte via de weefsellymphe en het paraplasm naar het protoplasma s. s. toe een zeer sterk spanningsverval van de zuurstof plaats heeft. Toch zal die spanning in het, het protoplasma s. s. onmiddellijk omspoelende paraplasm nog slechts een zeer geringe kunnen zijn.

Indien deze redeneering juist is, en ik aarzel niet dat met Ehrlich aan te nemen, dan moet een bacterie, die door een levende cel is gefagocyteerd en dus

¹⁾ Ehrlich. Das Sauerstoff-Bedürfniss des Organismus. Berlin, 1885.

omgeven is door een paraplasma, dat gelegen te midden van een zoozeer naar zuurstof hakend protoplasma s.s., zich al onder zeer gebrekkige oxygenatie-verhoudingen bevinden. De toestand waarin die bacterie dan zal verkeerren, vertoont groote overeenkomst met die van den bacilus butyricus in het beroemde experiment van Pasteur, wanneer zich aan de oppervlakte van de melk de aërophiele bacillus lacticus heeft ontwikkeld, of met die anaërobe microorganismen, welke goed gedijen te midden van andere zuurstofverbruikende bacteriën. Men kan dus veilig zeggen, dat een bacterie, die door een phagocyt is opgenomen, in een een toestand van microaërobiose verkeert, of zelfs, als men de oude minder juiste uitdrukking wil gebruiken, van anaërobiose. In nog sterker mate is dit het geval, wanneer de betrokken phagocyt ligt in het midden van een infiltraat of van een granuloom en dus relatief ver van de capillaire respiratievlakte is verwijderd en daarvan door een groot aantal van zuurstofverbruikende cellen is gescheiden.

Nu worden alle bacteriën, die in de weefsels doordringen, wanneer het lichaam over een zeker weerstandsvermogen beschikt, door phagocyten omringd en men is dus gedwongen aan te nemen, *dat alle pathogene microorganismen, die zich ten midden van de weefsels handhaven, zich aanpassen aan een toestand van microaërobiose.*

Men zou tegen deze stelling misschien willen aanvoeren, dat het toch niet gelukt is alle pathogene microorganismen anaëroob te kweken. M. i. is dit argument niet steekhoudend. De oorzaak van dit niet slagen ligt niet aan de bacteriën, maar aan onze methoden. Reeds is het gelukt talrijke vroeger voor obliagaat aëroob gehouden bacteriën aan anaërobe cultuur

te wennen, zoo b.v. de miltvuurbacil (Rosenthal) en in de experimenten van Charrin, De Nittis en Vincent¹⁾ bleken de aërobe bacillus subtilis en de bacillus megaterium eerst pathogeen te worden, nadat zij aan een anaërobiotische levenswijze waren gewend.

Tegen bovengenoemd bezwaar weegt bovendien volkomen op het feit dat verscheidene obligaat anaërobe microörganismen als pathogeen bekend staan. Ik noem hier slechts als oudst bekende den door Pasteur ontdekten vibrio septicus en als meest belangrijke de spirochaeta pallida. Noguchi, die er in geslaagd is laatstgenoemde bacterie te kweken, wijst er op, dat men vooral bij de eerste culturen, de geringste toetreding van lucht moet vermijden.

De stelling, dat de pathogene microöganismen in de weefsels onder microaërobiotische omstandigheden leven, is van groote practische beteekenis.

Er volgt n.l. uit, dat men op den verkeerden weg is, wanneer men de produkten, die in het lichaam van den zieke door de bacteriën worden gevormd, door middel van aërobe culturen wil bestudeeren.

Immers het is bekend, dat onder macroaërobiotische omstandigheden heel andere stoffen worden gevormd, dan onder microaërobiotische.

Wanneer men dus voor immunisatorische of andere doeleinden in vitro dezelfde stofwisselingsprodukten wil doen ontstaan, welke de bacteriën ook in vivo vormen, moet men, afgezien van de aan den voedingsbodem te stellen eischen, in de eerste plaats zorg dragen, dat het microörganisme onder microaërobiotische omstandigheden groeit.

¹⁾ Geciteerd uit Macé. Traité de Bactériologie. T. I, pg. 42. 6ieme Edit. 1912.

Het Alt-tuberkulin van Koch voldoet b.v. niet aan deze voorwaarde; evenmin trouwens een der andere in den handel gebrachte soorten. Beter is het in dit opzicht gesteld met de tuberculine, die in den „bouillon à l'oeuf" van Besredka en Jupille¹⁾ werd gevormd, door de tubercelbakillen, die in dit milieu op den bodem van het vat groeiden, in plaats van, als op de glycerinebouillon, aan de oppervlakte van de vloeistof. De tuberculine van Besredka en Jupille toonde dan ook in zooverre overeenstemming met de in vivo gevormde tubercelbakillen-produkten, dat zij het vermogen van specifieke complementbinding bezat in tegenwoordigheid van serum van tuberculeuze individuen.

Ten slotte wil ik nog een punt bespreken, waaromtrent de overweging, dat de phagocyten, om hun functie naar behooren te kunnen uitoefenen, voldoende geoxygeneerd moeten worden, eenige opheldering kan geven. Ik bedoel de chirurgische behandeling van abscessen. Een warm absces bestaat uit een ophooping van voor een groot deel degenereerende polynucleaire leucocyten, omgeven door een wand, de abscesmembraan, waarvan de cellen in hoofdzaak gevormd worden door groote macrophagen. Deze z.g. etterphagocyten vreten zoowel de degenereerende etterlichaampjes als de daarin en daartusschen woekerende microben op. Zij zijn daartoe in staat, zoolang hun oxygenatie voldoende is verzekerd, d. w. z. zoolang zij zich nog in den wand of althans niet te ver daarvan af bevinden. Dringen zij eehter dieper in het absces in, dan komen zij reeds op geringen afstand van den abscesmembraan in een toestand van van asphyxie en moeten noodzakelijk te

¹⁾ Besredka et Jupille. Le bouillon à l'oeuf. Ann. Past. XVII, 1913, 1009.

gronde gaan. De microben, die zich tusschen de talrijke degenereerende etterlichaampjes bevinden, kunnen nu ongestoord voortwoekeren en zullen weer nieuwe ontstekingscellen in het absces binnenlokken. Het absces zal zich daardoor wel uitbreiden, maar niet tot genezing komen, ten minste wanneer de etterophooping een zekeren omvang bereikt heeft. De circulus vitiosus wordt nu nog verergerd, doordat de toenemende spanning in het absces de vaten om den wand dichtdrukt en aldus de respiratie van dien wand nog wordt belemmerd. Breekt nu echter het absces door of maakt de chirurg een incisie en zorgt hij voor goede afvloeiing van de de pus, dan wordt ten eerste de spanning opgeheven, die de vaten om de abcesmembraan dichtdrukt, ten tweede blijft alleen een dun laagje etter over den absceswand achter, dat van uit dien wand voldoende wordt geoxygeneerd en ten derde stroomt met de pus het overgroote deel van de bacteriën en de door deze geproduceerde stoffen, die nieuwe etterlichaampjes naar den ontstekingshaard kunnen lokken, af. De macrophagen van den wand kunnen nu de genezing doen tot stand komen.

TOELICHTING TOT DE PLAAT.

Deze photogravures zijn gemaakt naar gekleurde waterverfschetsen, die vervaardigd waren door een op microscopisch gebied ondeskundigen teekenaar. De afbeeldingen zijn dus geheel onbevooroordeeld.

Fig. 1. Macrophaga, die twee microphagen heeft vastgegrepen, welke door de bijna volledige afsnoering en afronding der kernstukken een beginnende degeneratie verraden. De fijne korreling van deze laatste cellen is nog duidelijk waar te nemen.

Praeperaat uit de buikholte van een cavia, die 24 uur te voren met een suspensie van *Vibrio Metchnikoff* is ingespoten.

Fig. 2. Macrophaga uit een overeenkomstig praeparaat, die binnen een voedingsvacuole een microphaga bevat, welke een begin van pycnotische kerndegeneratie vertoont. Van de fijne korreling der ingesloten cel is weinig meer te zien.

Bovendien liggen naast den macrophaga twee microphagen, die reeds een sterke mate van kernafsnorming hebben ondergaan en waarschijnlijk reeds door dunne protoplasma-uitloopers van den macrophaga worden vastgehouden, maar nog niet geheel door het protoplasma daarvan zijn omringd.

Fig. 3 en 4. Macrophagen, die pycnotisch gedegeneerde microphagen, waarvan de fijne korreling niet meer zichtbaar is, in haar protoplasma hebben ingesloten. De gefagocyteerde cellen liggen in voedingsvacuolen.

Praeparaten uit de buikholte van een cavia 24, resp. 2 maal 24 uur na de injectie van een cultuur V. M.

Fig. 5 en 6. Losse syncytia in het exsudaat van de buikholte van een cavia ongeveer 1 uur na de injectie der vibrionen. Beide afbeeldingen vertoonen in het midden een cel met eosinophile korrels (zwart op de plaat). In fig. 6 rechts boven een cel, die een microphaag heeft opgenomen.

Fig. 1

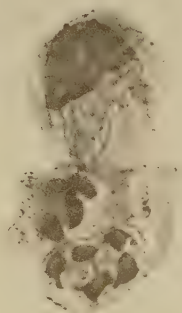


Fig. 2

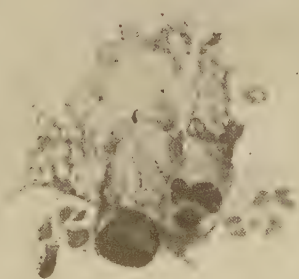


Fig. 3



Fig. 4

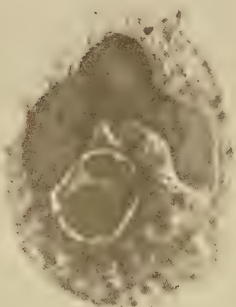


Fig. 5

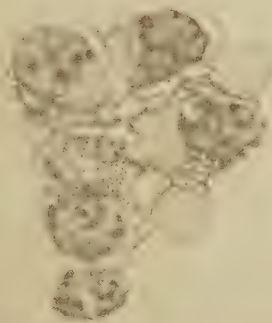
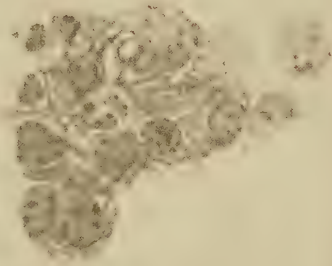


Fig. 6



STELLINGEN.

I.

De macrophagen, die de bacterio- en leucophagie uitoefenen, verzekeren in laatste instantie de genezing der infectieziekten en het verwerven der immuniteit.

II.

In de weefsels van het dierlijk organisme heerscht reeds op geringen afstand van de capillaire respiratievlakte een uiterst lage zuurstofspanning; de bacteriën, die daar leven, verkeeren dus in een toestand van micro-aërobiose en a fortiori is dit het geval, wanneer zij door phagocyten zijn omringd.

III.

Geen der tot dusverre in omloop gebrachte tuberculines voldoet aan de theoretisch te stellen eischen.

IV.

Het is niet bewezen, dat de paratyphus B-bacil een ziekte van het beeld der febris typhoidea kan veroorzaken.

V.

Plaatselijke uitpuilingen van den thorax bij exsudaten zijn niet langs zuiver mechanischen weg te verklaren.

VI.

Het is van belang voor hypodermoclyses van groote hoeveelheden vocht een zoutoplossing te gebruiken, die behalve NaCl ook CaCl_2 en KCl bevat in een overeenkomstige concentratie als waarin deze zouten in het bloedplasma voorkomen.

VII.

Het staat niet vast, dat vlooiën bij de verbreiding van de pest op Java, zoowel voor de overbrenging van de ziekte van rat op rat als van rat op mensch, den eenigen epidemiologisch belangrijken factor uitmaken.

VIII.

Wanneer bij een ulcus ventriculi of een ulcus duodeni een goed doorgevoerde interne kuur na 6 weken nog geen duidelijk succes heeft gehad, is operatieve behandeling in het algemeen aan te bevelen.

IX.

Totale uterusextirpatie wegens climacterische bloedingen van niet malignen aard is bij den tegenwoordigen stand van de stralen-behandeling een kunstfout geworden.

X.

Een tijdens het leven van een zieke bestaande pneumothorax is post mortem door middel van de daarvoor bij de sectie gebruikelijke methode niet altijd aan te toonen.

XI

Bij alle schotwonden van den hersenschedel is operatief ingrijpen gewenscht.

XII.

De diaschisis-leer van Von Monakow is door verschillende proefondervindelijke gegevens der laatste jaren (Rothmann e.a.) ernstig geschokt.

XIII.

Tot genezing van tuberculose van het strottenhoofd is chirurgische behandeling (waaronder begrepen galvanocaustiek) ongeschikt.

XIV.

De wet eische voor passagierschepen, die op de tropen varen, een behoorlijk ingericht scheepslaboratorium en een medicus, die in staat is eenvoudige bacteriologische onderzoeken te verrichten.

